



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE VETERINARIA

Análisis Transcriptómico y Proteómico del Oviducto y
Útero Bovino en la Fase Periovulatoria

D. Omar Salvador Acuña Meléndez
2015



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE VETERINARIA

Análisis transcriptómico y proteómico del oviducto y útero bovino en la fase periovulatoria

Omar Salvador Acuña Meléndez

2015



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

Murcia, España 23 de febrero de 2015

D. Manuel Avilés Sánchez, Profesor Titular en el departamento de Biología Celular e Histología de la Facultad de Medicina, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "*Análisis transcriptómico y proteómico del oviducto y útero bovino en la fase periovulatoria*", realizada por D. Omar Salvador Acuña Meléndez, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia con Mención Internacional.



Dr. Manuel Avilés Sánchez

Manuel Avilés Sánchez
Facultad de Medicina
Departamento de Biología Celular e Histología

Campus Universitario de Espinardo. 30100 Murcia
T. 868 884385



Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

Animal Physiology
Institute of Agricultural Sciences

ETH Zurich
PD Dr. Stefan Bauersachs
Universitaetstrasse 2 / LFW B 58.1
8092 Zurich, Switzerland
Phone +41 44 632 26 31
stefan.bauersachs@usys.ethz.ch
www.ap.ethz.ch

Prof. Dr. Manuel Avilés Sánchez
Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina
Universidad de Murcia, Campus Espinardo
Murcia, España. CP. 30100

To whom it may concern,

Priv.-Doz. Dr. Stefan Bauersachs (Oberassistent) Fisiología Animal, Instituto de Ciencias Agrícolas. ETH Zürich, Suiza, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "**Análisis transcriptómico y proteómico del oviducto y útero bovino en la fase periovulatoria**", realizada por **D. Omar Salvador Acuña Meléndez**, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia con Mención Internacional

Priv.-Doz. Dr. Stefan Bauersachs (Oberassistent/Senior Scientist) Animal Physiology, Institute of Agricultural Sciences, ETH Zurich, Switzerland, APPROVES:

The presentation of the doctoral thesis entitled "**Transcriptomic and proteomic analysis of the bovine oviduct and uterus in the periovulatory phase**" by **Omar Acuña Salvador Meléndez**, under my direction and supervision, and presents for obtaining PhD from the University of Murcia with International Mention.

Zurich, March 3, 2015

ETH Zurich
Animal Physiology
Institute of Agricultural Sciences
Universitätstrasse 2 / LFW B 58.1
8092 Zurich, Switzerland



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

Murcia, España 23 de febrero de 2015

Dña. **Maria Jiménez Movilla**, Profesor Contratado Doctor del departamento de Biología Celular e Histología de la Facultad de Medicina, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "*Análisis transcriptómico y proteómico del oviducto y útero bovino en la fase periovulatoria*", realizada por **D. Omar Salvador Acuña Meléndez**, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia con Mención Internacional.



Esta Tesis Doctoral ha sido propuesta para Mención de doctorado Internacional en virtud de la siguiente estancia de investigación e informes:

Estancia de investigación:

Ludwig Maximilians Universität München, Genzentrum, Laboratory for Functional Genome Analysis (LAFUGA-Genomics).
Múnich, Alemania. Dr. Stefan Bauersachs, Priv. Doz. Dr. rer. nat.,
Dr. habil. vet. med.

Período del 01/05/2013 al 31/07/2013.

Informes de Tesis:

Dr. Riccardo Focarelli, Universidad de Siena, Italia

Dra. María Dolores Saavedra Leos, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México.



LMU · Genzentrum · Feodor-Lynen-Str. 25 · 81377 München

Prof. Ann Van Soom

Chair, COST Action FA1201

Dr. Stefan Bauersachs
LAFUGA - Genomics

Telefon +49 (0)89 2180-76701
Telefax +49 (0)89 2180-76849

bsachs@lmb.uni-muenchen.de

www.lafuga.de

Feodor-Lynen-Str. 25
81377 München

Ihr Zeichen, Ihre Nachricht vom

Unser Zeichen
COST FA1201 STSM

Munich, 31.07.2013

Confirmation COST STSM of Omar Salvador Acuña Meléndez

Dear Dr. Van Soom,

Hereby I confirm the COST STSM of Salvador Acuna "Transcriptomics and proteomics of oviduct and uterus in cattle" (Reference: ECOST-STSM-FA1201-010513-028404) in LAFUGA Genomics under my supervision from 01-05-2013 to 31-07-2013. Salvador was highly motivated and worked hard during his stay to prepare and synchronize 6 heifers for the collection of tissue samples, oviduct and uterine fluids, and blood samples at the peri-ovulation phase. He isolated RNA from selected tissue samples and successfully performed an analysis of 16 samples with Agilent bovine custom-designed microarrays (8x60k array format). In addition, he learned the isolation of total RNA from tissues using endometrial tissue samples of different origin.

Salvador acquired and trained different skills and techniques during his stay at LAFUGA Genomics, e.g., genomic PCR, DNA sequencing, isolation and analysis of total RNA, and performing Agilent microarrays, which will be valuable for the successful conduction of his PhD work. The analysis of the gene and protein expression data obtained during his STSM will be continued in a further collaboration between the University of Murcia and ETH Zurich, where Dr. Bauersachs is going to move in September 2013.

Por la presente confirmo la estancia científica de corta duración "Short Term Scientific Mission" (STSM) COST de Salvador Acuña denominada "transcriptómica y proteómica del oviducto y útero en el ganado" (Referencia: ECOST-STSM-FA1201-010513-028404) en el Laboratorio de análisis de genómica funcional "Laboratory for Functional Genome Analysis" (LAFUGA Genómica) bajo mi supervisión del 01/05/2013 al 31/07/2013. Salvador estuvo muy motivado y trabajó duro durante su estancia para preparar y sincronizar 6 novillas para la recogida de muestras de tejidos de oviducto y útero; fluidos y muestras de sangre en la fase peri-ovulación. Se aisló el ARN de muestras de tejidos seleccionados y se realizó con éxito un análisis de 16 muestras de micromatrices Agilent® de diseño personalizado de la especie bovina (formato array 8x60k). Además, aprendió el aislamiento de ARN total de tejidos, utilizando muestras de tejido endometrial de diferentes orígenes. Salvador adquirió y se capacito en diferentes

habilidades y técnicas durante su estancia en LAFUGA Genómica, por ejemplo, genómica peR, secuenciación del ADN, aislamiento y análisis de ARN total, con chips de Agilent®, estas técnicas que serán de gran valor para la conducción exitosa de su trabajo de Tesis Doctoral. El análisis de los datos de expresión de genes y proteínas obtenidas durante su STSM se continuará en una mayor colaboración entre la Universidad de Murcia y la ETH Zurich, donde el Dr. Bauersachs se va a desplazar en septiembre de 2013.

Sincerely,

A handwritten signature in blue ink, consisting of a series of connected loops and a long horizontal stroke extending to the right.



UNIVERSITÀ
DI SIENA
1240



DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA

Dr. Riccardo Focarelli
Dept. Of Life Sciences
University of Siena
Tel. 0039-0577-234409
E-mail: riccardo.focarelli@unisi.it

Asunto: informe sobre la Tesis doctoral de D. Omar Salvador Acuña

A quien corresponda,

La Tesis del D. Acuña Meléndez titulado "*Análisis transcriptómico y proteómico del oviducto y útero bovino en la periovulatoria*" es muy interesante e importante para el avance en el campo de la reproducción y para la identificación de proteínas relevantes presentes en los fluidos del tracto reproductivo femenino que contribuirán a la fisiología de espermatozoide durante su trayecto hasta el sitio de la fecundación. Los resultados de esta tesis proporcionan información esencial para el desarrollo futuro nuevos medios de cultivo para mejorar las técnicas de reproducción asistida relacionados con la manipulación de los gametos masculinos.

La introducción y la revisión literaria es completa y actualizada, los métodos utilizados son tecnológicamente avanzados y adecuados, la sección de resultados es clara y la discusión también es muy informativa incluye los diferentes resultados obtenidos recientemente en el campo de la transcriptómica y proteómica en especies similares. Consecuentemente, este estudio ofrece conclusiones pertinentes y razonables. Por todas las razones mencionadas anteriormente, considero que esta Tesis está lista para ser defendida.

Atentamente

Dr. Riccardo Focarelli



UASLP
Universidad Autónoma
de San Luis Potosí



COORDINACIÓN
ACADÉMICA
**REGIÓN
HUASTECA SUR**

Tamazunchale, san Luis Potosí, México
04 Febrero 2015

A quien corresponda

Informe del trabajo de tesis realizado por el Sr. Osmar Salvador Acuña Meléndez

El trabajo de tesis denominado Análisis transcriptómico y proteómico del oviducto y útero bovino en la fase preovulatoria que el Sr. Osmar Salvador Acuña Meléndez presenta como tesis doctoral, desde mi punto de vista es aceptable para su defensa. Los resultados obtenidos en este trabajo ayudaran de forma importante a dilucidar los complejos procesos biológicos que rodean la fecundación. El hecho de que algunos de los resultados de esta tesis han sido incluidos en publicaciones y presentados en congresos especializados confirma la pertinencia de este trabajo de tesis.

El documento que el Sr. Osmar Salvador Acuña Meléndez, presenta una introducción clara, materiales y métodos descritos de tal forma que cada una de las técnicas puede ser reproducida. A pesar de que la introducción es muy amplia puede ser muy informativo para los estudiantes que inician en al área de reproducción. Las conclusiones son claras y concuerdan con los resultados.

Considero que no existe razón alguna que impida que este trabajo pueda ser defendido.

Saludos cordiales

Dra. María Dolores Saavedra Leos
Profesar de Tiempo Completo
Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada en el Departamento de Biología Celular e Histología de la Facultad de Medicina con la financiación de diferentes proyectos de investigación:

AGL2009-12512-C02-02 del MEC

AGL2012-40180-C03-02 del MIMECO

Proyecto de Excelencia de la Fundación Séneca 04542/GERM/06.

Omar Salvador Acuña Meléndez disfrutó de una beca de estudios de Doctorado otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT (México), registro 213560.

Omar Salvador Acuña Meléndez disfrutó de una beca de estudios de Posgrado en el marco del programa "Doctores Jóvenes" otorgada por la Universidad Autónoma de Sinaloa (México).

Omar Salvador Acuña Meléndez disfrutó de apoyo de movilidad "Short Term Scientific Mission Grants" (STSM). *COST-Epigenetics and Periconception Environment-Periconception environment as an epigenomic lever for optimising food production and health in livestock*. (COST-STSM-ECOST-STSM-FA 1201-010513-028404). Para la obtención de la Mención Internacional en el título de doctor.

Algunos de los resultados de esta tesis han sido incluidos en las siguientes publicaciones:

Artículos:

Mondejar I.; Acuña O. S.; Izquierdo-Rico M. J.; Coy P.; Avilés M., 2012: *The Oviduct: Functional Genomic and Proteomic Approach*. *Reproduction in Domestic Animals*, 47 22-29.

Comunicaciones a Congresos:

Acuña O. S.; Vilella I.; Canovas S.; Coy P.; Jimenez-Movilla M.; Avilés M., 2014: *Detection of SPAM1 in exosomes isolated from the bovine oviductal fluid*. *Reproduction in Domestic Animals*, 49 97-98.

Acuña O. S.; Jimenez-Movilla M.; Vilella I.; Jara L.; Canovas S.; Coy P.; Avilés M., 2014. *Detection of SPAM1 in the bovine oviductal fluid*. Poster. World Congress of Reproductive Biology (WCRB). Edimburgo, Reino Unido. Septiembre 2014.

Acuña O. S.; Stetson I.; Izquierdo-Rico M. J.; Coy P.; Avilés M., 2011: *Expression of sperm adhesion molecule-1 (SPAM1) in cow and sow oviduct*. *Reproduction in Domestic Animals*, 46 79-79.

Acuña O. S.; Moros C.; Izquierdo-Rico M. J.; Avilés M., 2011. *Expresión de la molécula de adhesión del espermatozoide 1 (SPAM1) en trompa de Falopio de mujer*. Poster. Asociación Española de Biólogos de la Reproducción (ASEBIR), Girona, España, Octubre 2011.

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de esta Tesis Doctoral.

A mi tutor Manuel Avilés Sánchez quiero manifestarle mi gratitud por todo el apoyo recibido para la realización de esta Tesis, por la confianza que depositó en mi, por compartir sus conocimientos, consejos y proyectos, que acrecentaron en mi el interés de continuar una carrera científica. Agradezco muy especialmente el gran apoyo que me brindó fuera del ámbito profesional, que me permitió reconocer en él su gran sentido de solidaridad y calidad humana.

A mi tutor Stefan Bauersachs, agradezco el que me haya permitido asistir a su laboratorio. Le agradezco por participar activamente proporcionando los medios para que este proyecto haya sido posible, agradezco también que haya atendido a todas mis dudas y cuestionamientos con especial profesionalismo y paciencia.

Mein ganz besonderer Dank gilt bei Herr Dr. Stefan Bauersachs, Ich danke ihn dafür, dass ich in sein Labor zu besuchen. Ich schätze Ihre aktive Teilnahme an liefern die notwendige Ausrüstung dieses Projekt möglich zu machen. Ich schätze Ihre für die Beantwortung aller Fragen, mit Professionalität und Geduld.

A mi tutora María Jiménez Movilla por la atención y consejos recibidos para que esta Tesis haya sido posible.

Agradezco a la Dra. Susanne Ulbrich por facilitar las novillas e instalaciones para la obtención de muestras.

Ich danke Frau Dr. Susanne Ulbrich erleichtern Färsen und Einrichtungen für die Probenahme.

Agradezco al Dr. Helmut Blum por permitirme visitar su laboratorio y por su paciencia. A todo el personal del laboratorio LAFUGA de genómica, a Andrea Klanner, a Sylvia Mallok, al Dr. Krebs, a Alex y muy especialmente a Sylvia y Ernest Hornig, por su apoyo y agradable compañía.

Bei Herr Dr. Helmut Blum Danke für die Erlaubnis, sein Labor zu besuchen und für Ihre Geduld. Vielen Dank an alle Laborpersonal LAFUGA Genomik, Andrea Klanner, Sylvia Mallok, Dr. Stefan Krebs, Alex und vor allem Sylvia und Ernest Hornig, für ihre Unterstützung und guter Gesellschaft.

Un especial agradecimiento a María José Izquierdo por todo el apoyo y sus consejos, a todos los profesores del departamento de Biología Celular e Histología, Concha Ferrer, Emma Martínez, Luis Miguel Pastor, José Ángel Martínez, Francisco Hernández, Juan Francisco Madrid, Emilio Gómez, José Ballesta y María Teresa Castells, gracias por su ayuda y compañía durante estos años.

A mis compañeros del departamento que compartieron conmigo todos estos años, por su ánimo, apoyo y compañerismo. A Lily, Carla, Narci, Wilson, Vicente, Blanca, Ascen, Lourdes, Sara, Esther, Tere y Luis Miguel. Un agradecimiento especialmente a Airyn por su paciencia en mis inicios en el laboratorio, por su apoyo y amistad. A Carla por su amable y atenta disposición que tiene siempre por ayudar.

A todos los profesores de Fisiología Animal en la Facultad de Veterinaria. Por las facilidades otorgadas para trabajar en su laboratorio y facilitar sus muestras para nuestros proyectos. Agradezco a Juan y especialmente a Sole por permitirme acompañarle para la recogida de muestras de mataderos. A los compañeros de Fisiología Animal en la Facultad de Veterinaria Jon, Aitor, Luis, Irene, Rebeca, Karen y Cristina siempre dispuestos a ayudar.

Gracias por todo el soporte técnico por parte de los diferentes departamentos del SACE y CAID. Hago un especial agradecimiento a Alejandro Torrecillas por su gran implicación en este proyecto y por su excelente apoyo técnico.

Un especial agradecimiento a todas las personas de la Universidad Autónoma de Sinaloa que me apoyaron para poder lograr mis estudios de Doctorado. Al MC Héctor M. Cuen, a los Doctores Francisco Ríos, Alfredo Estrada, A. Corrales Burgueño, Mario Nieves, al Ing. A. Valle y especialmente a Blanca López por sus amables y atentas gestiones.

A la memoria de mi abuelita Lucina López, por hacer de mi un hombre de bien. Agradezco a mi mamá, hermanas y hermano por su gran apoyo a pesar de la distancia. A mi papá por su siempre y acertado consejo, por su serenidad y madurez. A mis abuelos por sus consejos y por ser un modelo a seguir. A toda mi familia y a José Luis Cervantes.

A mi esposa y compañera de vida Tere Caro por ser parte de esta aventura, por su paciencia y apoyo incondicional, por ser como es, por estar a mi lado y por darme lo más preciado que tengo, mi hijo Marcos. Ellos me dan la fuerza día a día para seguir adelante.

A MI ESPOSA Y MI HIJO

A MI ABUELITA LUCINA

T ABLA DE CONTENIDOS

I NDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---|-----------|
| 1 RESUMEN | 1 |
| 1.1.- RESUMEN | 3 |
| 1.2.- SUMMARY | 9 |
| 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 17 |
| 2.1.- TRACTO GENITAL FEMENINO | 18 |
| 2.1.1.- El ciclo estral bovino | 18 |
| 2.1.2.- Generalidades del tracto genital de la vaca | 21 |
| 2.1.2.1.- Útero | 22 |
| 2.1.2.1.1.- Anatomía | 22 |
| 2.1.2.1.2.- Histología | 23 |
| 2.1.2.1.3.- Transcriptoma | 24 |
| 2.1.2.1.4.- Proteoma | 27 |
| 2.1.2.2.- Oviducto | 28 |
| 2.1.2.2.1.- Anatomía | 28 |
| 2.1.2.2.2.- Histología del oviducto | 30 |
| 2.1.2.2.3.- Transcriptoma | 34 |
| 2.1.2.2.4.- Fluido oviductal | 37 |
| 2.1.2.3 Efecto del tracto genital femenino en el espermatozoide | 39 |
| 2.1.2.3.1.- Transporte espermático | 39 |
| 2.1.2.3.2.- Reservorio espermático | 43 |
| 2.1.2.3.3.- Capacitación espermática | 46 |
| 2.1.2.3.3.1.- Modificación de la membrana plasmática del espermatozoide | 47 |
| 2.1.2.3.3.2.- Fosforilación de proteínas | 49 |
| 2.1.2.3.3.3.- Cambios en los patrones de motilidad espermática | 50 |
| 2.2.- ESPERMATOZOIDE | 51 |
| 2.2.1.- Espermatogénesis | 51 |
| 2.2.2.- Morfología y Estructura | 53 |
| 2.2.2.1.- Cabeza | 55 |
| 2.2.2.1.1.- Acrosoma | 56 |
| 2.2.2.1.2.-Membrana plasmática | 58 |
| 2.2.2.2.- Cuello | 60 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.2.3.- Cola o flagelo _____ | 60 |
| 2.2.3.- Maduración espermática _____ | 62 |
| 2.2.3.1.- Fluido epididimario _____ | 64 |
| 2.2.3.2.- Epididimosomas _____ | 67 |
| 2.2.3.3.- Reacción acrosómica _____ | 68 |
| 2.3.- MOLÉCULA DE ADHESIÓN DEL ESPERMATOZOIDE 1 (SPAM1) _____ | 72 |
| 2.3.1.- Estructura de la proteína SPAM1 _____ | 73 |
| 2.3.2.- Localización de SPAM1 en el espermatozoide _____ | 74 |
| 2.3.3.- Expresión de SPAM1 en testículo y epidídimo _____ | 75 |
| 2.3.4.- Funciones reproductivas de SPAM1 _____ | 78 |
| 2.3.4.1.- Actividad hialuronidasa de SPAM1 _____ | 78 |
| 2.3.4.2.- Capacidad de unión a ZP de SPAM1 _____ | 79 |
| 2.3.4.3.- Actividad de señalización celular de SPAM1 _____ | 81 |
| 3 OBJETIVOS _____ | 85 |
| 3.1.- Objetivo general: _____ | 87 |
| 3.2.- Objetivos específicos: _____ | 87 |
| 4 MATERIALES Y MÉTODOS _____ | 89 |
| 4.1.- MATERIALES _____ | 91 |
| 4.1.1.- Anticuerpos _____ | 91 |
| 4.1.2.- Hormonas _____ | 91 |
| 4.1.3.- Reactivos y Kits _____ | 92 |
| 4.1.4.- Tampones y soluciones _____ | 96 |
| 4.1.5.- Varios _____ | 97 |
| 4.1.6.- Equipos _____ | 98 |
| 4.2.- MÉTODOS _____ | 100 |
| 4.2.1.- Animales _____ | 100 |
| 4.2.1.1.- Novillas _____ | 100 |
| 4.2.1.2.- Sincronización del ciclo estral de novillas _____ | 101 |
| 4.2.2.- Obtención de material biológico _____ | 102 |
| 4.2.2.1.- Suero y plasma sanguíneo bovino _____ | 102 |
| 4.2.2.2.- Fluido oviductal bovino (FOB) _____ | 102 |
| 4.2.2.3.- Fluido uterino bovino (FUB) _____ | 103 |

| | |
|---|------------|
| 4.2.4.1.- Aislamiento y análisis de ARN _____ | 121 |
| 4.2.4.2.- Síntesis de ADN complementario para PCR _____ | 123 |
| 4.2.4.3.- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) _____ | 123 |
| 4.2.4.4.- Electroforesis en gel de agarosa _____ | 124 |
| 4.2.4.5.- Análisis de micromatrices (Microarray) _____ | 125 |
| 4.2.4.5.1.- Preparación de muestras y el procesamiento de microarray _ | 125 |
| 4.2.4.5.2.- Análisis de la integridad del ARN _____ | 127 |
| 4.2.4.5.3.- Hibridación _____ | 128 |
| 4.2.4.5.4.- Lavado y escaneo de Microarray _____ | 129 |
| 4.2.4.5.5.- Análisis de Microarray _____ | 130 |
| 4.2.4.5.6.- Análisis funcional de datos de Microarray _____ | 130 |
| 5 RESULTADOS _____ | 131 |
| 5.1.- ANÁLISIS DEL OVIDUCTO Y ÚTERO BOVINO EN FASE PERIOVULATORIA _ | 133 |
| 5.1.1.- Análisis de micromatrices _____ | 133 |
| 5.1.2.- Análisis proteómico de fluido oviductal y uterino en la especie bovina __ | 150 |
| 5.3.1.2.- Análisis por electroforesis _____ | 150 |
| 5.3.1.2.1.- Electroforesis bidimensional (2D-PAGE) _____ | 150 |
| 5.1.1.2.2.- Electroforesis bidimensional diferencial en gel (DiGE) _____ | 157 |
| 5.1.1.2.3.- Western-blot _____ | 172 |
| 5.2.- SPAM1 _____ | 173 |
| 5.2.1.- Análisis molecular _____ | 173 |
| 5.2.1.1- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) _____ | 173 |
| 5.2.2.- Análisis Bioquímico _____ | 174 |
| 5.2.2.1.- Western-blot _____ | 174 |
| 5.2.2.2.- Inmunoprecipitación _____ | 175 |
| 5.2.2.2.- Tinción de coomassie _____ | 175 |
| 5.2.2.2- Western-blot _____ | 176 |
| 5.2.3.- Análisis proteómico _____ | 176 |
| 5.2.3.1.- Análisis proteómico _____ | 176 |
| 5.2.4.- Análisis Histoquímico _____ | 178 |
| 5.2.4.1.- Microscopia Óptica (MO) _____ | 178 |
| 5.2.4.2.- Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM) _____ | 179 |

| | |
|--|------------|
| 5.2.5- Unión de SPAM1 oviductal a la ZP de ovocitos bovino _____ | 182 |
| 6 DISCUSIÓN _____ | 183 |
| 6.1.- EXPRESIÓN DIFERENCIAL ENTRE EL OVIDUCTO Y EL ENDOMETRIO DE LA VACA _____ | 186 |
| 6.1.1.- Agrupamiento de las sondas detectadas por el análisis de micromatrices según su perfil expresión _____ | 188 |
| 6.1.1.1.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA1) _____ | 188 |
| 6.1.1.2.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA2) _____ | 189 |
| 6.1.1.3.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA3) _____ | 193 |
| 6.1.1.4.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA4) _____ | 197 |
| 6.1.1.5.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA5) _____ | 198 |
| 6.1.1.6.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA6) _____ | 198 |
| 6.1.2.- Expresión diferencial entre la ampolla y la unión istmo-ampular del oviducto. _____ | 199 |
| 6.1.3.- Clasificación funcional de transcritos identificados que sintetizan a proteínas secretadas _____ | 200 |
| 6.2.- PROTEOMA DEL OVIDUCTO Y ENDOMETRIO EN LA ESPECIE BOVINA _____ | 202 |
| 6.2.1.- Proteoma del fluido oviductal _____ | 205 |
| 6.2.2.- Proteoma del fluido uterino _____ | 207 |
| 6.2.3.- Comparativa del proteoma del oviducto y endometrio en la especie bovina _____ | 208 |
| 6.2.4- Aportación del suero sanguíneo a los fluidos reproductivos del tracto femenino bovino _____ | 212 |
| 6.3.- SPAM1 EN LA REPRODUCCIÓN DE LOS MAMÍFEROS _____ | 212 |
| 7 CONCLUSIONES _____ | 217 |
| 7.1.- CONCLUSIONES _____ | 219 |
| 7.2.- CONCLUSIONS _____ | 220 |
| 8 ANEXOS _____ | 223 |
| Anexo I Proteínas identificadas en el fluido uterino bovino _____ | 225 |
| Anexo II Listado de genes agrupados (SOTA1) _____ | 228 |
| Anexo III Listado de genes agrupados (SOTA2) _____ | 261 |
| Anexo IV Listado de genes agrupados (SOTA3) _____ | 285 |
| Anexo V Listado de genes agrupados (SOTA4) _____ | 295 |

| | |
|---|------------|
| Anexo VI Listado de genes agrupados (SOTA5) | 297 |
| Anexo VII Listado de genes agrupados (SOTA6) | 298 |
| Anexo VIII Genes expresados únicamente por el oviducto en la especie bovina | 299 |
| Anexo IX Genes expresados únicamente por el endometrio en la especie bovina | 300 |
| 9 BIBLIOGRAFÍA | 305 |

I. Abreviaturas

| | |
|--------------------|---|
| aa | Aminoácidos |
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| AMP | Adenosín monofosfato |
| ARN | Ácido ribonucleico |
| ATP | Adenosín trifosfato |
| BCA | Ácido bicinconínico |
| BSA | Albúmina sérica bovina |
| BSP | Proteína de unión del espermatozoide |
| cAMP | Adenosín monofosfato cíclico |
| CCO | Complejo <i>Cumulus Oophorus</i> |
| CHAPS | (3-[(3-Colamidopropil)- dimetilamonio]-propano sulfonato) |
| DAB | 3,3'diaminobencidina |
| DAVID | " <i>Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery</i> " Base de datos para anotación, visualización y descubrimiento integrado |
| DEGs | Genes expresados diferencialmente |
| DiGE | Electroforesis diferencial en gel bidimensional |
| DPBS | Tampón fosfato salino Dulbecco |
| DTT | Ditiotreitol |
| ECM | Matriz extracelular |
| EDTA | Ácido etildiaminotetraacético |
| FDR | Filtrado de falsos descubrimientos |
| FIV | Fecundación <i>in vitro</i> |
| FOB | Fluido Oviductal Bovino |
| FSH | Hormona folículo estimulante |
| FUB | Fluido Uterino Bovino |
| GnRH | Hormona liberadora de gonadotropina humana |
| GO | Ontología de genes |
| GPI | Glicosilfosfatidilinositol |
| HA | Ácido hialurónico |
| IA | Inseminación artificial |
| IM | Intramuscular |
| LH | Hormona luteinizante |
| MO | Microscopía Óptica |
| P4 | Progesterona |
| PBS | Tampón fosfato salino |
| PCR | Reacción en cadena de la polimerasa |
| PGE ₂ | Prostaglandina E2 |
| PGF ₂ α | Prostaglandina F2 alfa |
| PVDF | Fluoruro de polivinilideno |
| RA | Reacción acrosómica |
| RIN | Número de integridad de ARN |
| RT | Temperatura ambiente |
| SDS-PAGE | Electroforesis en gel depoliacrilamida con dodecilsulfato sódico |
| SEM | Microscopia electrónica de barrido |

| | |
|-------------|---|
| SSB | Suero Sanguíneo Bovino |
| TBS | Solución salina tamponada de Tris |
| TBST | Solución salina tamponada de Tris con 0,05% de tween 20 |
| TEM | Microscopia Electrónica de Transmisión |
| Tm | Temperatura de fusión |
| UTJ | Unión útero tubárica |
| ZP | Zona Pelúcida |

II. Lista de figuras

| | |
|---|----|
| <i>Figura 1 Representación esquemática del ciclo estral bovino.</i> | 19 |
| <i>Figura 2 Tracto genital de la vaca.</i> | 22 |
| <i>Figura 3 Cuerno uterino diseccionado de vaca nulípara en fase periovulatoria.</i> | 23 |
| <i>Figura 4 Vascularización del cuerno uterino de vaca.</i> | 23 |
| <i>Figura 5 Microscopia óptica de útero bovino. Corte transversal del epitelio endometrial. Epitelio glandular del útero bovino. Epitelio columnar (E), estroma (e), epitelio glandular (Eg).</i> | 24 |
| <i>Figura 6 Agrupamiento por perfiles de expresión en el ciclo estral en endometrio bovino.</i> | 26 |
| <i>Figura 7 Representación esquemática del oviducto y las estructuras adyacentes en la especie bovina.</i> | 29 |
| <i>Figura 8 Disección de oviducto bovino. Se muestra las tres regiones, ampolla (a), unión istmo-ampular (uia), istmo (i) y unión útero- tubárica (uut).</i> | 30 |
| <i>Figura 9 Esquema de la histología del oviducto de cerda. Secciones transversales del istmo (arriba), la unión útero-tubárica (izquierda), y de la ampolla (derecha).</i> | 31 |
| <i>Figura 10 Imagen por TEM y SEM del oviducto bovino.</i> | 32 |
| <i>Figura 11 Representación esquemática del endosalpinx en le especie bovina al examen microscópico.</i> | 33 |
| <i>Figura 12 Esquema de GO de genes expresados diferencialmente en estro y diestro en el endometrio bovino.</i> | 34 |
| <i>Figura 13 Clasificación por localización de genes expresados en la trompa de Falopio normal (GEO: GSE10971).</i> | 35 |
| <i>Figura 14 Agrupación funcional de los genes clasificados como “secretados” utilizando DAVID con datos de las trompas de Falopio normales.</i> | 36 |
| <i>Figura 15 Diagrama de Venn que muestra la superposición de genes expresados oviducto de humano, bovino y porcino.</i> | 36 |
| <i>Figura 16 Cambios del volumen fluido del oviducto de las vacas durante el ciclo estral. Los volúmenes máximos de fluido se produjeron inmediatamente después del estro (línea blanca) y correspondían a bajas concentraciones de progesterona, y un pico de estradiol.</i> | 38 |
| <i>Figura 17 SEM de esperma bovino y epitelio oviductal bovino.</i> | 45 |
| <i>Figura 18 Bases moleculares de procesos rápidos y lentos asociados a la capacitación espermática.</i> | 49 |
| <i>Figura 19 Representación de la hiperactivación espermática.</i> | 50 |
| <i>Figura 20 Fases de la espermatogénesis del humano.</i> | 53 |

| | |
|--|------------|
| <i>Figura 21 Representación esquemática de un espermatozoide típico de mamífero, señalando las diversas regiones del espermatozoide.....</i> | <i>55</i> |
| <i>Figura 22 Características generales de la cabeza de espermatozoide de ratón (izquierda) y conejo (derecha)..</i> | <i>56</i> |
| <i>Figura 23 Esquema de las partes del espermatozoide humano maduro con sus diferentes partes.</i> | <i>61</i> |
| <i>Figura 24 Proteoma y secretoma de epidídimo de bovino en SDS-PAGE.</i> | <i>66</i> |
| <i>Figura 25 Secuencia de eventos durante la reacción acrosómica del espermatozoide de los mamíferos.....</i> | <i>69</i> |
| <i>Figura 26 Fecundación desde un punto de vista moderno.</i> | <i>72</i> |
| <i>Figura 27 Esquema de la proteína Spam1 del ratón en forma madura.</i> | <i>73</i> |
| <i>Figura 28 Esquema de la proteína SPAM1 bovino.....</i> | <i>74</i> |
| <i>Figura 29 Detección por Western-blot de las dos isoformas de SPAM1 en el fluido epididimario.</i> | <i>78</i> |
| <i>Figura 30 Esquema de la proteína SPAM1 de conejillo de indias antes y después de la RA.....</i> | <i>80</i> |
| <i>Figura 31 Modelo de expresión de HSPA2, SPAM1 y ARSA en la superficie de los espermatozoides humanos.</i> | <i>82</i> |
| <i>Figura 32 Inyección de hormonas a novillas. Se realizó vía intramuscular en la región de la anca.....</i> | <i>101</i> |
| <i>Figura 33 Extracción de fluido oviductal con micropipeta.....</i> | <i>103</i> |
| <i>Figura 34 Disección de tracto genital de vaca. (A) Oviducto ipsilateral (B) Cuerno uterino ipsilateral.</i> | <i>103</i> |
| <i>Figura 35 Imagen del oviducto bovino posterior a la disección donde se indican sus diferentes regiones. (a) ampolla, (uia) unión istmo ampular, (i) istmo y (uut) unión útero tubárica.....</i> | <i>107</i> |
| <i>Figura 36 Representación esquemática del protocolo de inmunoprecipitación.....</i> | <i>112</i> |
| <i>Figura 37 Representación esquemática del protocolo de electroforesis en dos dimensiones 2D-PAGE.....</i> | <i>116</i> |
| <i>Figura 38 Representación esquemática del protocolo de electroforesis diferencial DiGE.....</i> | <i>118</i> |
| <i>Figura 39 Diagrama de flujo de trabajo para la preparación de muestras y su procesamiento para el análisis de micromatrices (microarray).</i> | <i>126</i> |
| <i>Figura 40 Visualización de ARN ribosomal en gel de agarosa (1%) incubado en bromuro de etidio.....</i> | <i>127</i> |
| <i>Figura 41 Imagen de electroforesis de ARN, generada por bionalizador Agilent.....</i> | <i>128</i> |
| <i>Figura 42 Cámara de hibridación de micromatrices Agilent a). Ejemplo de carga de muestras en los slides b). Burbujas deseables una vez montados los slides en la cámara de hibridación c).</i> | <i>129</i> |
| <i>Figura 43 Diagrama de caja de las 14 muestras filtradas para sondas detectables y normalizadas con el paquete VSN de BioConductor.....</i> | <i>134</i> |

| | |
|--|------------|
| <i>Figura 44 Heatmap de correlación de pares de conjunto de datos de normalizados de micromatrices. Generado con el paquete geneplotter de BioConductor.</i> | <i>134</i> |
| <i>Figura 45 Seis agrupamientos tipo SOTA basados en la similitud en los perfiles de expresión génica en los tejidos estudiados.....</i> | <i>135</i> |
| <i>Figura 46 Diagrama de Venn de los genes diferencialmente expresados entre las muestras de endometrio (U_cr) y las dos regiones del oviducto (O_a y O_u).</i> | <i>140</i> |
| <i>Figura 47 Diagrama de Venn del transcriptoma de las muestras de endometrio y el oviducto.</i> | <i>141</i> |
| <i>Figura 48 Gráfica de tarta de genes expresados comunes entre el endometrio y oviducto de la vaca.....</i> | <i>142</i> |
| <i>Figura 49 Redes de interacción por evidencia de los 175 genes clasificados como secretados y del espacio extracelular expresados comunes entre el endometrio y el oviducto de vaca.</i> | <i>143</i> |
| <i>Figura 50 Electroforesis en 2D de FOB en fase periovulatoria. Resolución de 300 µg de FOB en maxigel con tiras reactiva de gradiente no lineal de pH (3-10), teñido con azul de coomassie.</i> | <i>151</i> |
| <i>Figura 51 Electroforesis en 2D de FUB en fase periovulatoria. Resolución de 300 µg de FUB en maxigel con tiras reactiva de gradiente no lineal de pH (3-10), teñido con azul de coomassie.</i> | <i>151</i> |
| <i>Figura 52 Electroforesis en 2D de FOB en fase periovulatoria marcado con sonda fluorescente Cy2. Resolución de 300 µg de FOB en maxigel, con tiras de gradiente no lineal de pH (3-10).....</i> | <i>152</i> |
| <i>Figura 53 Electroforesis en 2D de FUB en fase periovulatoria marcado con sonda fluorescente Cy2. Resolución de 300 µg de FUB en maxigel, con tiras de gradiente no lineal de pH (3-10).</i> | <i>153</i> |
| <i>Figura 54 Proteínas más abundantes del fluido oviductal de la vaca. Electroforesis en 2D de FOB en fase periovulatoria. Resolución de 300 µg de FOB en maxigel con tiras reactiva de gradiente no lineal de pH (3-10), teñido con azul de coomassie.</i> | <i>154</i> |
| <i>Figura 55 Red de interacción por evidencia de las proteínas más abundantes del FOB en fase periovulatoria, donde se detectaron hasta 32 interacciones..</i> | <i>155</i> |
| <i>Figura 56 Proteínas más abundantes del fluido oviductal de la vaca. Electroforesis en 2D de FUB es fase periovulatoria. Resolución de 300 µg de FUB en maxigel con tiras reactiva de gradiente no lineal de pH (3-10), teñido con azul de coomassie.</i> | <i>156</i> |
| <i>Figura 57 Red de interacción por evidencia de las proteínas más abundantes del FUB en fase periovulatoria, donde se detectaron hasta 15 interacciones.</i> | <i>157</i> |
| <i>Figura 58 Electroforesis en 2D diferencial (DiGE) de FOB, FUB y SSB en fase periovulatoria. Comparativa entre FOB (verde) y FUB (rojo) y la mezcla (azul) imágenes a, b y c.</i> | <i>158</i> |
| <i>Figura 59 Electroforesis en 2D diferencial (DiGE) de FOB y FUB en fase periovulatoria.....</i> | <i>159</i> |
| <i>Figura 60 Electroforesis en 2D diferencial (DiGE) de FOB y SSB en fase periovulatoria.....</i> | <i>160</i> |
| <i>Figura 61 Electroforesis en 2D diferencial (DiGE) de FUB y SSB en fase periovulatoria.....</i> | <i>161</i> |

| | |
|---|-----|
| <i>Figura 62 Diagrama de Venn de las proteínas identificadas por espectrometría de masas de fluido oviductal bovino (FOB), fluido uterino bovino (FUB) y suero sanguíneo bovino (SSB).</i> | 162 |
| <i>Figura 63 Red de interacción por evidencia de las 47 proteínas identificadas por MS/MS de FOB y FUB en fase periovulatoria, se observan 91 interacciones.</i> | 166 |
| <i>Figura 64 Electroforesis en 2D diferencial (DiGE) de FOB y FUB en fase periovulatoria.</i> | 169 |
| <i>Figura 65 Red de interacción por evidencia de las 42 proteínas de FOB.</i> | 170 |
| <i>Figura 66 Red de interacción por evidencia de las 44 proteínas de FUB.</i> | 171 |
| <i>Figura 67 Inmunodetección por Western-blot en membrana en FOB y FUB con anticuerpo anti-OVGP1.</i> . | 172 |
| <i>Figura 68 Expresión por PCR de SPAM1 en oviducto de diferentes especies de mamíferos. Mujer (a), yegua (b), vaca (c) y cerda (d).</i> | 173 |
| <i>Figura 69 Inmunodetección por Western-blot de SPAM1 en espermatozoides y FOBs bovinos.</i> | 174 |
| <i>Figura 70 Gel SDS-PAGE de inmunoprecipitación de SPAM1. Resolución de 10 µg aprox. de FOB (a), inmunoprecipitación con el protocolo de crosslink (b) y clásico (c) Teñido con azul de coomassie.</i> | 175 |
| <i>Figura 71 Inmunodetección por Western-blot de SPAM1 de proteína inmunoprecipitada de FOB.</i> | 176 |
| <i>Figura 72 Inmunodetección con anti SPAM1 bovino (1:100) en corte histológico de istmo oviductal de vaca, visto al microscopio óptico, revelado con DAB.</i> | 178 |
| <i>Figura 73 TEM de inmunocitoquímica ultraestructural de oviducto bovino con anti-SPAM1.</i> | 180 |
| <i>Figura 74 TEM de inmunocitoquímica ultraestructural de oviducto bovino con anti-OVGP1.</i> | 181 |
| <i>Figura 75 Inmunodetección con anti SPAM1 en ovocitos de vaca, observación microscópica confocal.</i> | 182 |

1 RESUMEN

1.1.- RESUMEN

La fecundación de los mamíferos es un proceso complejo que requiere una serie de eventos que comienzan con la fusión de los gametos, hasta el desarrollo de un nuevo individuo. La fecundación es un proceso biológico que ha sido estudiado en gran medida; Sin embargo, este análisis se centró principalmente en los gametos y su interacción. El número de estudios que tratan de descifrar el papel desempeñado por el tracto genital de la mujer en la fecundación *in vivo* es escasa. Un evento clave en la reproducción es el momento en que el espermatozoide se deposita en el tracto genital de la mujer después de la cópula o la inseminación artificial. El tracto genital femenino ofrece el entorno necesario para el transporte de los espermatozoides para llegar al lugar donde ocurre la fecundación. Este microentorno está mediado principalmente por los fluidos presentes en el lumen uterino y oviductales. Se sabe que estos fluidos contenían la secreción producida por las células epiteliales y por el trasudado de la sangre. Entonces, es muy importante conocer en detalle la composición de estos fluidos y su influencia en los gametos anteriores a la fecundación. En el período cercano a la ovulación o período periovulatorio el tracto genital de la mujer está listo para la interacción de gametos y fecundación. En la especie bovina, hay un período previo a la ovulación en la cual el espermatozoide debe permanecer en el tracto femenino para obtener su capacidad fecundante. Debido a la importancia de este período centraremos nuestro estudio en esta fase del ciclo estral.

Diferentes metodologías se han utilizado para saber cómo se sintetizan estos fluidos y su composición en los diferentes órganos del aparato genital femenino. Básicamente podríamos hablar de dos enfoques fundamentales, el estudio desde la genómica funcional y el estudio desde de la proteómica. Estas técnicas nos permiten estudiar un gran número de datos simultáneamente, como es el caso de la genómica funcional donde el análisis de micromatrices nos permite conocer los perfiles de expresión génica y la expresión diferencial entre

diferentes muestras. Estas técnicas nos indican con fiabilidad las proteínas que pueden ser sintetizadas en el oviducto y endometrio de la especie estudiada. Por otro lado, el estudio de la proteómica, ayuda a conocer el contenido proteico de los fluidos oviductales y uterinos, desde una forma general por espectrometría de masas (MS/MS) y desde el análisis de los "spots" obtenidos después de la separación de las proteínas por electroforesis en gel de dos dimensiones (2D), así como la identificación de algunas proteínas por Western-blot.

El objetivo general de esta Tesis Doctoral ha sido el determinar mediante técnicas de biología molecular y proteómica, la expresión general y diferencial de genes y proteínas expresados por el oviducto y endometrio en el período periovulatorio en la especie bovina. Investigamos la posible influencia del tracto femenino en el espermatozoide en el período cerca del momento de la fecundación. Por otra parte, se realizó un análisis más detallado sobre la molécula de adhesión del espermatozoide 1 (SPAM1) en el oviducto y su fluido en la especie bovina.

Para cumplir con nuestros objetivos, enfocamos nuestro estudio desde tres puntos. El primero desde el análisis molecular, con el estudio de micromatrices de tejidos epiteliales de oviducto y endometrio de la especie bovina, en el período periovulatorio, con el fin de conocer a través de este análisis la información acerca de la expresión génica diferencial entre los diferentes tejidos y la agrupación de los genes de acuerdo a la similitud en su patrón de expresión.

El segundo enfoque fue desde el punto de vista proteómico. Diferentes técnicas fueron utilizadas para identificar las proteínas contenidas en los fluidos oviductales y uterinos de la fase periovulatoria de la vaca. La electroforesis 2D y DiGE, nos permitieron identificar las proteínas mayoritarias y las diferenciales presentes en cada uno de los fluidos. Además de enriquecer nuestro conocimiento del proteoma de dichos fluidos. El último enfoque fue el estudio a

detalle de alguna de las proteínas mediante el uso de técnicas de biología molecular y proteómica, inmunohistoquímica y en Western-blot.

Los diferentes tejidos y fluidos para el análisis de micromatrices, electroforesis 2D y DiGE fueron obtenidos de seis novillas sincronizadas hormonalmente. El ARN total de las muestras de oviducto y endometrio fue extraído mediante el protocolo Trizol®. La integridad del ARN se evaluó en un Bioanalizador Agilent 2100. Para nuestro estudio las muestras utilizadas tenían un valor RIN superior a 7,9. El análisis de micromatrices de expresión se realizó con microarray personalizado de bovino (8x60k, Agilent). El escaneo y extracción de imagen se realizó con Agilent Technologies. Los datos filtrados fueron normalizados con el paquete VSN (Bioconductor). El análisis estadístico se realizó con el paquete Limma (Bioconductor) (FDR 1%). La clasificación funcional se hizo con la herramienta bioinformática DAVID. Las redes de interacción se realizaron con la herramienta bioinformática de STRING 9.1.

Las seis muestras fueron agrupadas en 3 grupos. Para los geles 2D fueron cargados 300 µg de proteína total y para los geles DiGE 100 µg por muestras. Las muestras de DiGE fueron marcadas con los fluoróforos de cianina (CyDyes 2, 3 y 5). La primera dimensión se hizo bandas de gradiente pH 3 a 10 no lineal. La segunda dimensión se hizo por electroforesis en SD-PAGE. Las imágenes fueron obtenidas con un escáner de alta definición y Thyphoon™ para los geles 2D y DiGE respectivamente. El análisis de imagen se realizó con el software ImageMaster 2D Platinum 7.0. Los "spots" seleccionados fueron recortados e identificados por MS/MS.

Para la identificación y aislamiento de la proteína SPAM1 en el bovino, las muestras procedieron de matadero comercial. Para la detección por Western-blot y aislamiento de SPAM1 bovino se utilizó fluido oviductal. Esta proteína fue identificada por MS/MS e incubada

posteriormente con ovocitos bovinos para determinar la interacción con ZP.

El análisis de micromatrices nos dio como resultado 5509 genes con expresión diferencial, entre las muestras de oviducto y endometrio. Los resultados obtenidos una vez clasificados en función de los perfiles de expresión (SOTA), nos dieron hasta 6 grupos diferentes. El primer grupo de 1523 genes se caracterizó por tener una expresión ligeramente aumentada en las muestras de oviducto en comparación con el endometrio. Una vez clasificados encontramos que hasta 221 de ellos fueron clasificados por que tenían una actividad catalítica. Dentro de este grupo de genes que codifican enzimas, pudimos identificar los genes HPSE, GPX2 y TSSK3. El segundo grupo con 1079 genes tenía una expresión ligeramente disminuida en las muestras de oviducto en comparación con el endometrio.

Posterior a la clasificación funcional se encontró que 245 genes fueron clasificados como proteínas de unión. Dentro de este grupo encontramos genes como ACRBP, ANXA5, ANXA6, APOA1 y GPX4. Los cuatro grupos restantes se caracterizan por tener una expresión disminuida en los tejidos oviductales y una expresión especialmente aumentada en el endometrio. Estas diferencias de los grupos van desde 2 a 5 veces. Así por ejemplo, nos encontramos que el tercer agrupamiento tenía hasta 38 genes clasificados como hidrolasas, dentro de estos se puede destacar la presencia de hidrolasas lisosomales como FUCA1, HYAL1, GNS y RNASE6. Los tres grupos restantes contenían 97, 21 y 40 genes.

Otro dato importante que nos aportó el análisis de micromatrices es que la diferencia de expresión génica entre la ampolla y la unión istmo-ampular era muy escasa teniendo una homología de entre el 89% entre los genes aumentados respecto al endometrio y de un 86% para los genes disminuidos respecto a la expresión en el tejido endometrial.

Por otro lado, pudimos observar que de los 5509 genes expresados tanto en el oviducto como en el endometrio, 5160 genes eran comunes entre ambos tejidos. Posterior a su clasificación funcional encontramos que 175 de ellos eran clasificados como secretados y/o de matriz extracelular. Dentro de este grupo encontramos grupos de genes que participan en las vías de respuesta a estímulos, adhesión focal y la de interacción con ECM-receptor. En el grupo de genes que se consideraron como expresados únicos por el oviducto (fold change $\log_2 \geq 4$) se clasificaron y se encontró que 18 proteínas se definieron como secretados y/o del espacio extracelular, dentro de estas se identificó OVGP1, CFH y MU16. En el caso de los genes únicos del endometrio, fueron catalogados como secretados un total de 101 genes. Entre estos, se detectaron algunos colágenos y otros genes (COL1A2, COL3A1, COL4A1, COL4A2, COL5A3, COL6A1, COL6A2, FN1, LAMC3, PGF, COL6A3, TNC, TNXB) relacionados con la vía de la adhesión focal.

Los resultados obtenidos a partir de los geles 2D de los fluidos oviductales y uterinos nos permitieron identificar una media de 458 y 242 "spots" en el fluido oviductal y uterino respectivamente. Un análisis cuantitativo de la relación de volumen de los diferentes puntos reveló que la albúmina de suero es la proteína más abundante en ambos fluidos.

Los geles de tipo DiGE, nos aportaron datos para identificar las proteínas comunes presentes en los fluidos oviductales y uterinos. Hasta un total de 52 "spots" fueron identificados, estos se correspondían a 47 proteínas, se observó que 29 de estas eran comunes para el fluido oviductal y uterino. Tras la clasificación funcional de estas 47 proteínas encontramos que 28 de ellas se agrupaban como proteínas de unión y 28 en la vía de respuesta al estímulo.

El análisis de la imagen del gel DiGE mostró que la proteína TPPP3 es hasta 421 veces más abundante en el fluido oviductal en comparación con el uterino, así también para las proteínas siguientes

HSPA5, ANXA8, HSP90B1, ANXA1 (7,62; 6,06; 5,50; 2,41 número de veces más abundante respectivamente). Por otro lado, las proteínas más abundantes en el fluido uterino respecto al fluido oviductal fueron la proteína AKR1B1 con un valor de 59,73, veces más; IQGAP1 con 41,85; PSAT1 29,00; PHGDH 16,20 y otras 10 proteínas por encima de 2 veces más respecto al fluido oviductal. Algunas de estas proteínas como ANXA1 y AKR1B1 se comprobaron por Western-blot, coincidiendo los resultados obtenidos con los geles DiGE.

La última parte de esta tesis se encargó del estudio de la proteína SPAM1. Se detectó la presencia de ARNm de SPAM1 en el oviducto de diferentes especies de mamíferos, tal es el caso de la mujer, yegua, cerda y vaca. Mediante Western-blot e inmunocitoquímica, se comprobó también que SPAM1 se encuentra en el fluido oviductal y en las células epiteliales oviductales. Mediante técnicas inmunocitoquímicas pudimos observar que esta proteína se observa en el citoplasma (no asociado a orgánulos) de células secretoras y ciliadas, por lo que no se encuentra asociada su expresión en los gránulos secretores de las células no ciliadas oviductales. Después del aislamiento de SPAM1 del fluido oviductal de la vaca, se comprobó que se une a la ZP de ovocitos bovinos.

En conclusión, nuestros resultados mostraron de una manera general, las similitudes y diferencias que aportan las diferentes partes del tracto genital femenino durante el período cercano a la ovulación en la especie bovina. Comprobamos mediante la expresión génica y del proteoma que hay vías y mecanismos reproductivos comunes para el útero y el oviducto, como son las vías que intervienen en la unión a proteínas, de respuesta al estímulo, los mecanismos de defensa y de protección ante el estrés oxidativo. Sin embargo, también se comprobó la existencia de vías específicas para cada uno de los tejidos de estudio. Así, en el oviducto destacan las proteínas del choque térmico, algunas con actividad catalítica y de unión y en el fluido uterino destacan la presencia de proteínas que intervienen en la adhesión focal,

modificación de la matriz extracelular (ECM) y gran cantidad de inmunoglobulinas procedentes de suero sanguíneo. Estos resultados implican un alto grado de especialización de estos órganos reproductivos proporcionando el microambiente necesario para la acogida del espermatozoide y su transporte, de cara al posterior encuentro, interacción y fusión con el ovocito, hasta la culminación de una fecundación exitosa.

Cabe mencionar que algunas de estas proteínas y vías detalladas en este estudio, con anterioridad han sido descritas en el tracto genital masculino, algunas de ellas ya se ha demostrado que juegan un papel importante en conferir y mejorar la capacidad fecundante de los espermatozoides. Por lo tanto, podríamos deducir que el tracto femenino podría jugar un papel en corregir algunas posibles deficiencias reproductivas de los espermatozoides y/o mejorarlos para que la fecundación tenga lugar.

1.2.- SUMMARY

Mammalian fertilization is a complex process that requires a series of events, starting with gamete fusion and culminating in the development of a new individual. Fertilization is a widely studied biological process; however previous but this analysis mainly focuses on gametes and their interactions. The number of studies that attempt to describe the role played by the female genital tract in *in vivo* fertilization is scarce. A key event in reproduction is the step when the sperm are deposited in the female genital tract after copulation or artificial insemination. The female genital tract provides the environment needed for the sperm to reach the site where fertilization takes place. This microenvironment is mainly mediated by the fluids present in the uterine and oviductal lumen, and it is known that these fluids contain the secretion produced by the epithelial cells and by the blood transudate. It is therefore very important to investigate in detail the composition of these fluids and their influence on gametes prior to

fertilization. In the periovulatory period, the female genital tract is ready for gamete interaction and fertilization. In bovine species, there is a period before ovulation occurs in which the sperm must remain in the female tract in order to attain its fertilization capacity. This study will focus in this period due to its biological relevance.

Different methodologies have been used to investigate how these fluids are synthesized and its composition in the different organs of the female genital tract. Basically, two different methods have been used for this analysis, functional genomic and proteomic analysis, both of which allow the analysis of a large number of data simultaneously. Thus, the microarray analysis provides the gene expression profile and throws light on differential gene expression among different biological samples. This technique provides accurate information about the proteins synthesized in the oviduct and endometrium of the species of interest. On the other hand, proteomic analysis provides information about the proteins present in the oviductal and uterine fluids by using mass spectrometry (MS/MS) and, more specifically, the different spots obtained after the separation of the proteins using two dimensional (2D) gel electrophoresis, and also the identification of some proteins by Western-blot.

The general aim of this Doctoral Thesis is to analyse gene expression, differential gene expression and proteins by means of molecular and proteomic techniques in the oviduct and endometrium during the periovulatory period in bovine species. We investigate the possible influence of the female genital tract on sperm near the fertilization time. Moreover, a more detailed analysis of sperm adhesion molecule 1 (SPAM1) in the oviduct and its fluid in the bovine species was carried out.

To attain these objectives, this thesis focuses on three points. First, a microarray molecular analysis of epithelial cell isolated from the oviduct and the endometrium of bovine species in the periovulatory period was carried out. This kind of analysis provides information on

differential gene expression in different tissues and groups the genes according to the gene expression pattern.

Second, a proteomic analysis was performed to identify the proteins contained in the oviductal and uterine fluids of bovine species in the periovulatory phase. The 2D gel electrophoresis and DiGE analysis allow the identification of abundant proteins and the proteins that are specific to each of these fluids. Moreover, this analysis will enrich our knowledge of the proteome of both fluids.

Third, a detailed analysis of some proteins of interest was carried out by means of PCR molecular analysis, immunohistochemistry and Western-blot.

The different tissues and fluids for microarray analysis, 2D and DiGE electrophoresis were obtained from six hormonally synchronized heifers. Total RNA from oviducts and endometrium were obtained using Trizol®. RNA integrity was evaluated with the Bioanalyzer Agilent 2100, while only samples with an RIN value higher than 7.9 were used. Slides specific for bovine species with 8x60k and the scan were from Agilent Technologies. All the filtered data were normalized using the VSN (Bioconductor) package, while the statistical analysis used Limma (Bioconductor, FDR 1%). The functional classification of the differentially expressed genes was performed using the bioinformatics tool DAVID. The network of the different groups of genes was obtained using the web bioinformatics tool STRING 9.1.

The six different samples were classified into 3 groups. A total of 300 µg of proteins was used for the 2D electrophoresis and 100 µg for the DiGE analysis. The different samples were labelled with the cyanine fluorophores (CyDyes 2, 3 and 5). Strips with a non-linear gradient of pH 3 to 10 were used for the first dimension separation. The second dimension corresponded to SDS-PAGE electrophoresis. The images were obtained using a high resolution scanner and Thyphoon™ for the 2D gel and DiGE respectively. Image analysis was performed using the

software ImageMaster 2D Platinum 7.0. The spots were selected and processed for MS/MS analysis.

Different samples were obtained from a commercial slaughterhouse for the identification and isolation of the SPAM1 protein. This protein from the oviductal fluid was analyzed by Western-blot and MS/MS. Also, bovine oocytes were incubated with this protein to study its interaction with the ZP.

The microarray analysis showed that 5509 genes are differentially expressed (DEGs) in the oviduct and endometrium. A total of 6 different groups were obtained after the use of SOTA classification according to their gene expression profiles. The first group includes 1523 genes with an expression slightly higher in the oviduct when compared with the endometrium. 221 of these genes, including HPSE, GPX2 and TSSK3, have a catalytic activity. A total of 1079 expressed genes were detected in the second group with a slightly lower expression in the oviduct when compared with the endometrium.

245 of these genes including ACRBP, ANXA5, ANXA6, APOA1 and GPX4 are classified as binding protein. The last four groups are characterized by a lower expression in the oviduct and an especially higher expression in the endometrium compared with the oviduct. These differences showed a range between 2-5 fold. For example, in the third group there are at least 38 genes classified as hydrolases including the lysosomal enzymes FUCA1, HYAL1, GNS and RNASE6. The three remaining groups have 97, 21 and 40 genes respectively.

Another important finding of the microarray analysis was the low difference of the gene expression pattern between the ampulla and the isthmus-ampullary region. Thus, an 89% and 86% of up-regulated and down-regulated genes compared to the endometrium are similar among the two different oviductal tissues used in this study.

It was observed that 5160 of a total of 5509 genes were expressed in both the oviduct and the endometrium. After a functional classification, it was found that 175 of these genes were included in the secreted and/or extracellular group. Some genes were involved in the response to stimulus, focal adhesion and ECM-receptor interaction. In the group of genes considered as unique to the oviduct (fold change $\log_2 \geq 4$), 18 genes codified for secreted or extracellular space proteins, including OVGP1, CFH and MUC16. In the case of the genes uniquely expressed in the endometrium, 101 genes were classified as secreted, including different genes that codify for the collagen protein (COL1A2, COL3A1, COL4A1, COL4A2, COL5A3, COL6A1 and COL6A2, COL6A3) and other genes (FN1, LAMC3, PGF, TNC and TNXB) related with focal adhesion.

The 2D electrophoresis analysis allowed the identification of 458 and 242 different spots in the oviductal and uterine fluid respectively. A quantitative analysis of the volume ratio of the different spots revealed that serum albumin is the most abundant protein in both fluids.

The DiGE analysis allowed discrimination between the proteins that were common to and specific to the uterine and oviductal fluids. Of the 52 spots identified, 47 proteins corresponded to proteins, of which 29 were common to both fluids. The functional classification of these 47 proteins indicated that 28 are involved in protein binding and 28 in the response to stimulus.

Image analysis of the DiGE gel showed that the protein TPPP3 is 421 times more abundant in the oviductal fluid than in the uterine fluid. It was also observed that the proteins HSPA5, ANXA8, HSP90B1 and ANXA1 are 7.62; 6.06; 5.50 and 2.41 times more abundant in the oviductal fluid than in the uterine fluid. On the other hand, the proteins AKR1B1, IQGAP1, PSAT1 and PHGDH were 59.73, 41.85, 29 and 16.20 times more abundant in the uterine fluid than in the oviductal fluid. A

further 10 proteins were also more abundant (2-fold) in the uterine fluid. Some of these, including ANXA1 and AKR1B1, were corroborated by Western-blot which supported the results obtained with the DiGE analysis.

Finally of this thesis also provides information on SPAM1. The SPAM1 gene is expressed in the oviduct of different mammalian species including human, equine, porcine and bovine. Western-blot and immunohistochemistry techniques also showed the SPAM1 protein to be present in the oviductal fluid and the oviductal epithelial cells in bovine. The use of immunogold techniques showed that the protein is present in the cytoplasm (not associated with organelles) of both ciliated and non-ciliated cells. There was non-specific immunolabelling in the secretory granules of the non-ciliated cells. SPAM1 isolated from the oviductal fluid is able to bind to the ZP

In conclusion, the results obtained in this thesis illustrate the similarities and differences in the oviduct and endometrium during the periovulatory period in bovine species. It was seen that the gene expression and the proteome of both tissues shared some pathways, such as those involved in protein binding, response to stimulus, with the mechanisms of defense and protection against oxidative stress. However, some specific pathways for particular tissues were also identified. Thus, the pathways highlighted in the oviduct are related with the heat shock proteins and others with catalytic activity and binding. In the uterus, specific pathways included the presence of proteins involved in focal adhesion modification of extracellular matrix (ECM) and a high amount of immunoglobulins originating from serum. These results point to the high degree of specialization of the tissues analyzed in this study in providing an adequate microenvironment for the sperm reception, sperm transport, gamete interaction and gamete fusion needed for successful fertilization.

It should be noted that some of the proteins and pathways described in this study were described previously in the male genital tract, where, some of these proteins were reported to play an important role in sperm fertility and its improvement. It may be deduced therefore that the female genital tract contributes to the correction of some sperm deficiencies.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Σ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

2.1.- TRACTO GENITAL FEMENINO

2.1.1.- El ciclo estral bovino

La pubertad en novillas se puede definir como el momento en que se produce el primer celo o estro. La edad en el inicio de la pubertad depende una gran cantidad de factores genéticos y ambientales, como la raza, nutrición, época del año (Ball y Peters 2004).

El ciclo estral se divide en cuatro fases: El estro, que es el período de receptividad sexual (día 0), el metaestro o período post-ovulatorio (días 1-4), el diestro, donde está presente el cuerpo lúteo activo (días 5-18) y por último el pro-estro, que es justo el período antes de celo (días 18-20). Sin embargo, en la vaca el ciclo podría describirse mejor en términos de la función ovárica, el cual consiste en dividir el ciclo en dos fases: la fase folicular (proestro y estro) y la fase luteal (metaestro y diestro) (Ball y Peters 2004). En el bovino el ciclo estral tiene una duración de 21 días. El ciclo se inicia por la liberación de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) desde el hipotálamo, que a su vez provoca la liberación de la hormona folículo estimulante (FSH) de la glándula pituitaria anterior, esto estimula el crecimiento folicular. Varios folículos son los que se desarrollan hasta la etapa antral, sin embargo, sólo el más maduro (folículo dominante) responde a los niveles de FSH y es destinado a ovular (Webb et al., 2003). Los folículos antrales restantes dejan de crecer y sufren atresia. El aumento de los niveles de estrógenos desde el folículo preovulatorio inicia una respuesta de retroalimentación positiva desde el hipotálamo, de modo que una liberación de GnRH inicia el pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH). El pico de LH por lo general dura 7-8 horas y la ovulación ocurre generalmente 24-32 horas después (Ball y Peters 2004) (Fig. 1).

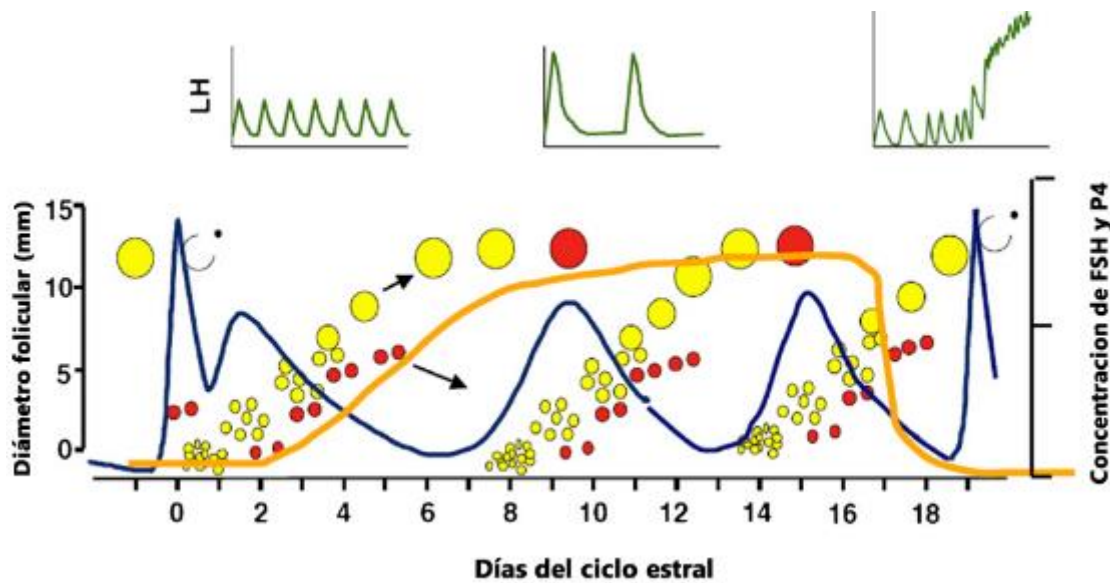


Figura 1 Representación esquemática del ciclo estral bovino. Patrón de secreción de la hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y progesterona (P4); y el Patrón de crecimiento de los folículos ováricos durante el ciclo estral en bovinos. Modificado de Forde et al., 2011b.

En la ovulación, el folículo maduro se rompe y dispersa su contenido de líquido folicular en la cavidad abdominal, la liberación del óvulo rodeado por células del complejo *cumulus oophorus* (CCOs) es recogido por la fimbria del oviducto y se transporta hacia el oviducto, por una combinación de la acción ciliar y las contracciones musculares de la pared oviducto.

Diversos cambios son los que provocan los estrógenos sobre el tracto reproductor femenino. Los estrógenos promueven la retención de líquidos por parte de la vagina, útero y oviducto, a la palpación rectal estos órganos se sienten más turgentes, estos cambios también son apreciados por imagen ecográfica transrectal (Pierson y Ginther 1987). Los estrógenos también aumentan el flujo de sangre hacia el tracto reproductivo, provocando con ello el aumento en la producción de los fluidos contenidos en el tracto (Ball y Peters 2004, Araki y Yoshida-Komiya 1998, Pierson y Ginther 1987).

En el endometrio bovino durante el ciclo estral ocurren cambios característicos en cuanto a su composición y estado de diferenciación. Estos cambios están regulados principalmente por las hormonas, como la progesterona (P4) (Forde et al., 2011a), el estradiol y la oxitocina

(Spencer et al., 2004). En el estro, los niveles de P4 son bajos hasta llegar a los niveles más altos en diestro. La oxitocina ocupa sus receptores en el útero e induce la secreción pulsátil de $\text{PGF}_{2\alpha}$ del útero. $\text{PGF}_{2\alpha}$ desencadena en la regresión de cuerpo lúteo ovárico o luteólisis a través de contra-corriente entre la vena y la arteria uterina de ovario dando como resultado el inicio de un nuevo ciclo ovárico (Forde et al., 2011b).

Estos cambios también se aprecian en el microambiente al interior del útero y sirven para satisfacer las necesidades de los gametos masculinos y el embrión temprano. Las acciones de los estrógenos en el útero durante el ciclo estral están mediadas a través de la interacción con su respectivo receptor de estrógeno intracelular (Meikle et al., 2001). Los estrógenos inducen la síntesis de su propio receptor, así como el receptor de progesterona en varias especies. La hormona LH participa en la regulación de la ciclooxigenasa 2 (COX2) y la producción de prostaglandinas por las células epiteliales endometriales, provocando con ello la luteólisis y la posterior ovulación. Aunado a este aumento de prostaglandinas y la disminución de receptores en el útero del receptores de FSH, GnRH y LH, demuestra la participación activa del útero en la autorregulación autocrina-paracrina durante el ciclo estral del bovino (Shemesh 2001).

En el oviducto estos cambios hormonales también afectan a la producción del fluido oviductal.

La producción de este fluido depende de la influencia que ejercen las hormonas esteroideas del ovario (Araki y Yoshida-Komiya 1998). Sin embargo, el mecanismo por el cual los esteroides ováricos influyen en la secreción de los fluidos del oviducto no está del todo esclarecida. Trabajos realizados con oviductos de ovejas se demostró que, tanto las células secretoras ciliadas y no ciliadas del epitelio oviductal son sensibles a las variaciones en las concentraciones de esteroides (Murray 1995, DeSouza y Murray 1995). En cultivos *in vitro* se observó que los

estrógenos inducen la hipertrofia, maduración y el aumento de la altura de las células epiteliales secretoras y puede restaurar parcialmente las ciliadas (Comer et al., 1998), mientras que la progesterona causa atrofia y disminución de la actividad secretora. Estos cambios en la morfología de las células epiteliales provocan también variaciones en su actividad de síntesis proteica, que contribuyen a la variación en la producción de fluido del oviducto. Las hormonas esteroideas pueden influir en la tasa de secreción de líquido mediante la modulación del movimiento de iones a través del epitelio oviductal (Leese et al., 2001).

2.1.2.- Generalidades del tracto genital de la vaca

El tracto reproductivo femenino está formado por diferentes órganos que incluyen los ovarios, que producen los gametos femeninos; los oviductos, son el sitio que proporciona el microambiente necesario para la unión de los gametos masculino y femenino en la fecundación y el inicio del desarrollo embrionario; el útero, es donde el embrión resultante de la fecundación se desarrolla; la vagina, que sirve como protección para el tracto genital superior y por último se incluyen también la vulva, ésta forma la abertura exterior del tracto genital (Fig. 2). La vulva sirve para la entrada del pene del toro en la copula, así como para la expulsión del ternero al nacer (Ball y Peters 2004).

La vagina constituye el órgano copulativo de la vaca. Dependiendo de la raza, edad o estado reproductivo, el tamaño de la vagina varía, pero este oscila entre los 25 y 30 cm. En el piso de la vagina, aproximadamente a 10 cm de la parte anterior de la vulva se encuentra la salida de la uretra en el divertículo sub-uretral. En la especie bovina, el cuello del útero sobresale y restringe el lumen de la parte craneal de la vagina a un espacio en forma de anillo, conocido como fórnix (König y Liebich 2004).

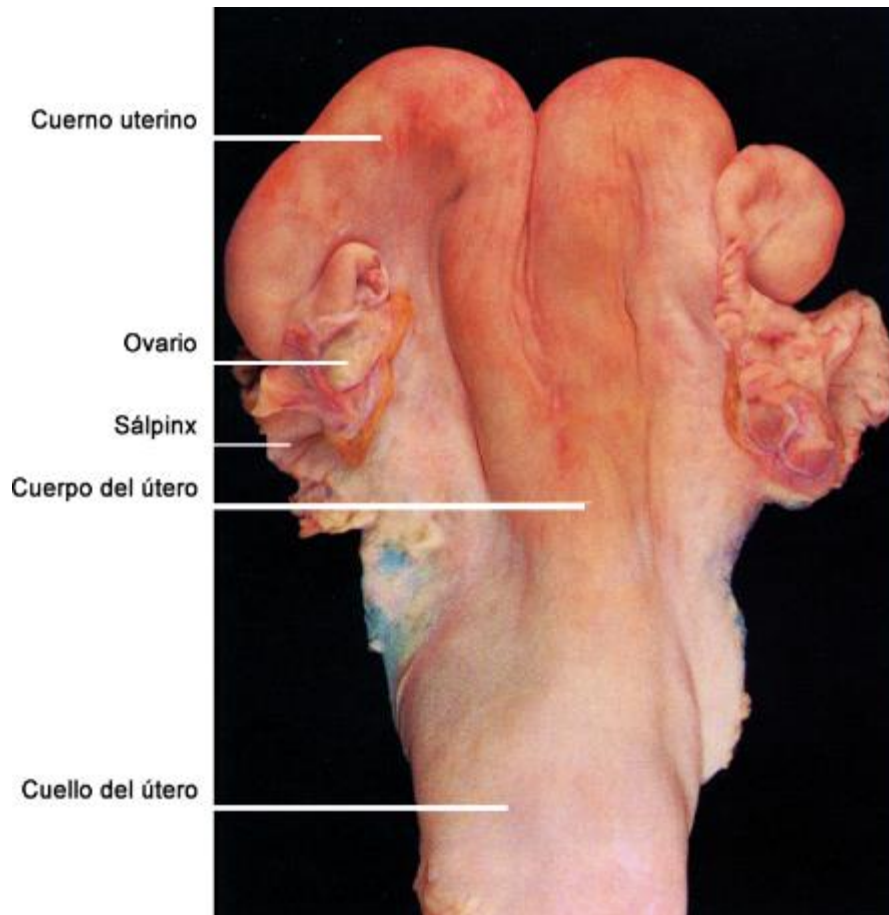


Figura 2 Tracto genital de la vaca. Modificado de König and Liebich, 2004.

2.1.2.1.- Útero

2.1.2.1.1.- Anatomía

El útero es un órgano muscular hueco que consta de un cuerpo corto y dos cuernos. El útero bovino al diseccionarlo tiene forma de "Y".

El tamaño de los cuernos varía dependiendo de la edad y paridad de la vaca, pero oscila entre los 20 a 45 cm aproximadamente (McEntee 1990) (Fig. 3). Las puntas de los cuernos uterinos tienen forma de "S". El útero se suspende en la cavidad pélvica por los ligamentos uterinos grandes en ambos lados. Por estos ligamentos transitan las venas, arterias y nervios que irrigan e inervan al útero. La sangre se suministra al tracto por las arterias útero-ováricas y uterinas de las cuales la arteria uterina media es la más grande (Ball y Peters 2004) (Fig. 4).



Figura 3 Cuerno uterino diseccionado de vaca nulípara en fase periovulatoria.

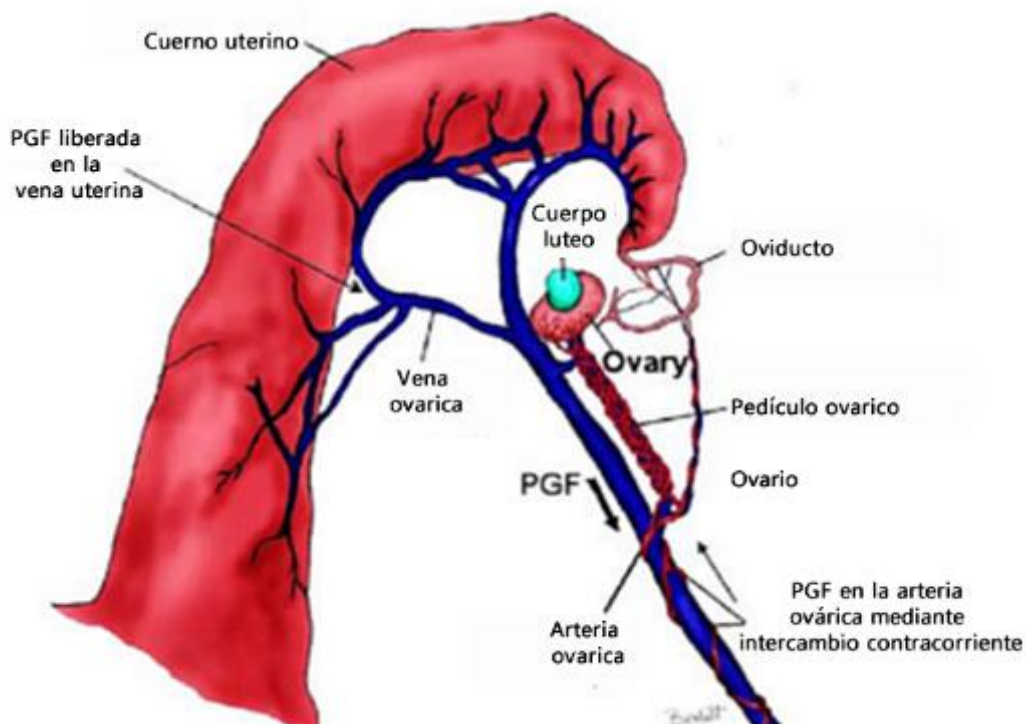


Figura 4 Vascularización del cuerno uterino de vaca. Modificado de Forde et al., 2011b.

2.1.2.1.2.- Histología

La pared uterina varía desde 3 hasta 10 mm de espesor y se compone de tres capas: la capa interna o endometrio; una capa muscular, el miometrio; y la capa externa o serosa (McEntee 1990). En el endometrio de los cuernos uterinos existen unas áreas elevadas especializadas conocidas como carúnculas dispuestas en cuatro filas longitudinales, que son características de los ruminantes y éstas actúan

como puntos de unión de la placenta durante la gestación (Ball y Peters 2004).

La superficie de epitelio del endometrio es columnar pseudoestratificado no ciliado y el epitelio de las glándulas es columnar (Fig. 5). Las glándulas uterinas son estructuras tubulares en espiral, que se extienden hasta el miometrio. Los conductos de las glándulas se vuelven rectos a medida que pasan a través del estroma endometrial compacto debajo de la superficie del epitelio. Las glándulas uterinas se distribuyen de manera uniforme entre las carúnculas y por debajo de ellas. El estroma endometrial consiste en dos zonas: una zona relativamente estrecha y superficial, llamada zona compacta, esta zona formada por tejido fibroso, contiene numerosos vasos capilares; la otra zona profunda es mucho más amplia esta zona se le denomina estrato esponjoso. (McEntee 1990).

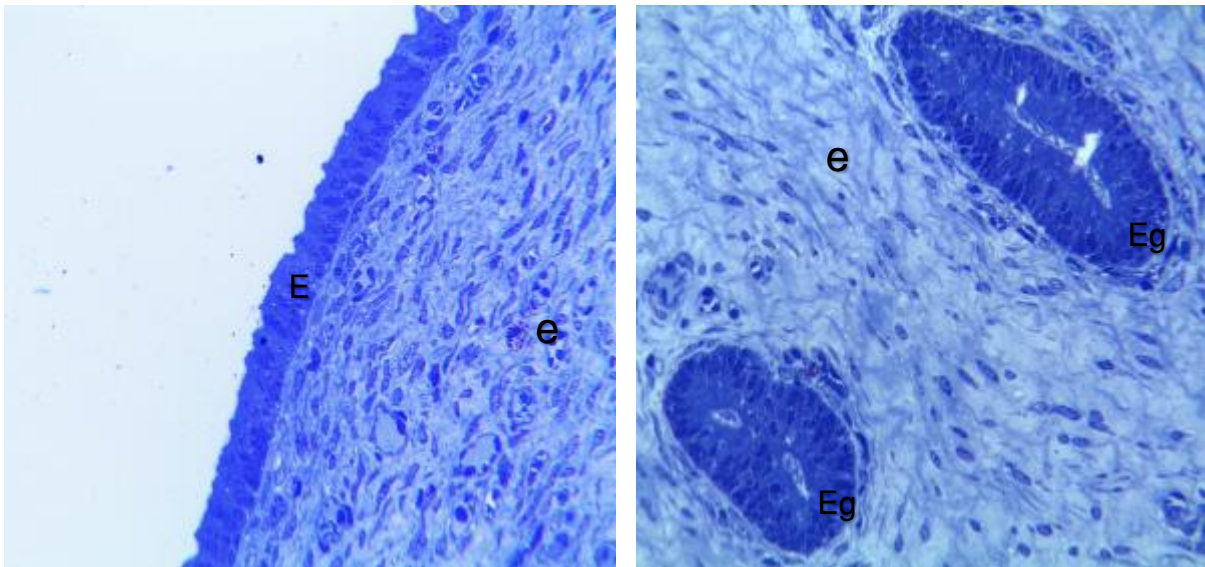


Figura 5 Microscopia óptica de útero bovino. Corte transversal del epitelio endometrial. Epitelio glandular del útero bovino. Epitelio columnar (E), estroma (e), epitelio glandular (Eg).

2.1.2.1.3.- Transcriptoma

Las primeras investigaciones del transcriptoma del endometrio bovino estuvieron basadas en una combinación de ADNc e hibridación de matrices de ADNc, demostraron que algunos genes tienen una expresión diferencial entre las diferentes regiones del cuerno uterino

en el día 0 y 12 del ciclo estral (Bauersachs et al., 2005). En este mismo trabajo se realizó un análisis comparativo entre el estro y diestro del ciclo estral teniendo como resultado por lo menos 2 veces más expresión en estro respecto al diestro. El análisis completo de los fragmentos indicó que hasta 65 genes fueron diferencialmente expresados en el estro, una clasificación de la ontología de estos genes indicó que estos están relacionados con la adhesión celular, la motilidad celular y la matriz extracelular.

Los genes que mostraron mayor expresión diferencial en el estro fueron: la proteína de la leche uterina (UTMP), claudina 10 (CLDN), inhibina beta A (INHBA), metaloproteinasa de matriz 2 (MMP2), proteína convertasa 5 (PCSK5), ácido retinoico (RA), proteína del receptor de ácido retinoico respondedor 1 (RARRES1), proteína de la glándula salival 1 (SAL1) y la tenascina C (TNC). En la fase del diestro, se encontraron 68 genes con mayor expresión en esta fase. El análisis ontológico de estos genes mostró que se relacionan con ARN mensajeros que codifican para enzimas y proteínas de transporte, en particular las que están involucradas en los canales iónicos. Los transcritos con mayor expresión diferencial fueron el angiotensinógeno (GT), N/K ATPasa (ATP1B1), citocromo P450 (CYP26A1), diacilglicerol O-aciltransferasa (DGAT2), proencefalina (PENK) y el factor de crecimiento derivado de teratocarcinoma 1 (TDGF1) (Bauersachs et al., 2005). Un análisis posterior se incluyeron las diferentes fases del ciclo estral (día 0, 3.5, 12, y 18 con concentraciones bajas de P4 "18 P4 Low" y altas "18 P4 High" de P4 en suero), los resultados demostraron que no hay unas diferencias significativas de expresión entre las muestras de los días 0, 18 P4 Low, la expresión génica en día 3,5 es un intermedio entre el estro y diestro para la mayoría de los genes analizados, mostrando mayores diferencias entre las muestras del día 12 y 18 P4 High. La agrupación de acuerdo con la correlación de sus perfiles de expresión pueden observarse en la figura 6.

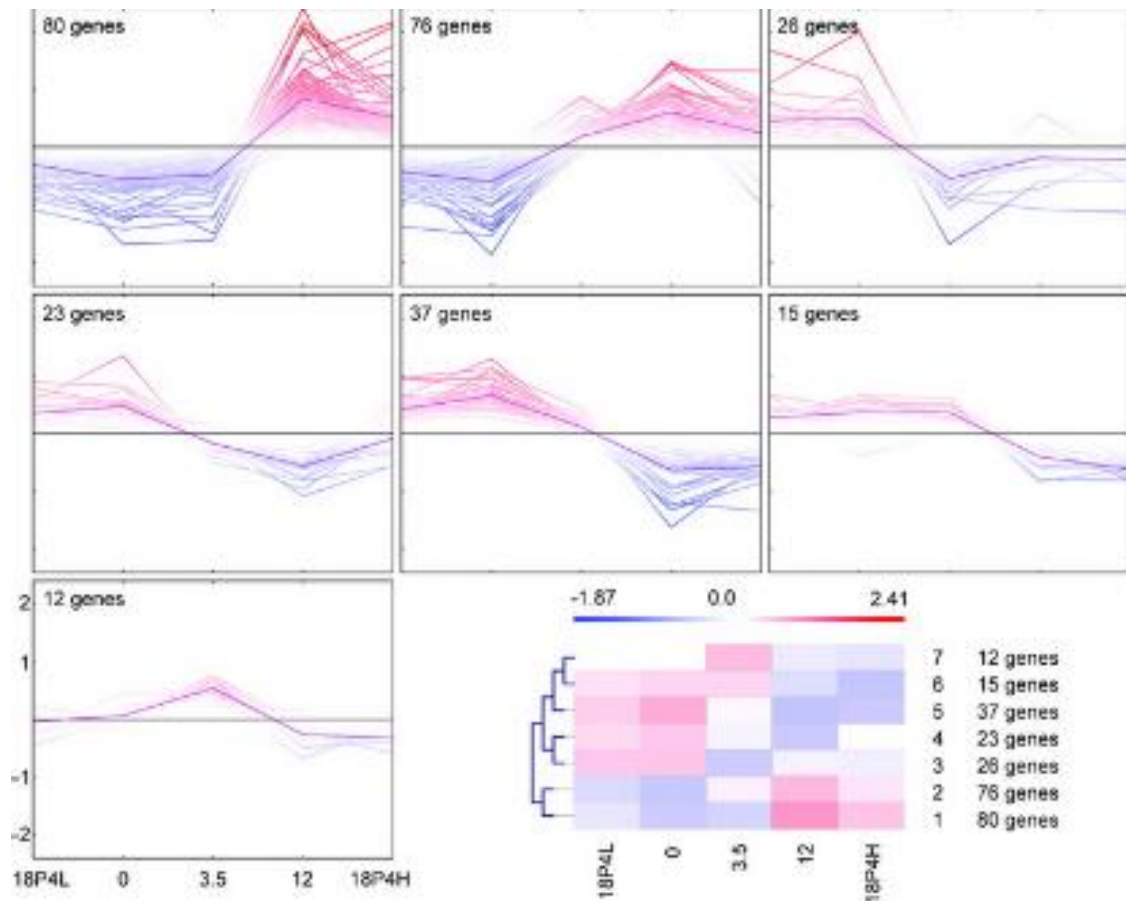


Figura 6 Agrupamiento por perfiles de expresión en el ciclo estral en endometrio bovino. Tomado de Mitko et al., 2008.

El análisis ontológico de los genes altamente expresados en la fase periovulatoria y que corresponde a la fase de estudio de tesis se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1 Genes altamente expresados en fase periovulatoria (día 0 y "18 P4 Low") del endometrio bovino.

| Categoría Gene Ontology GO | Número de genes | P valor |
|--|-----------------|---------|
| Región extracelular | 29 | <0,001 |
| Transporte | 28 | <0,001 |
| La matriz extracelular | 13 | <0,001 |
| Transporte intracelular | 13 | <0,001 |
| Establecimiento de localización de la proteína | 10 | 0,005 |
| Retículo endoplasmático | 10 | 0,008 |
| Parte del citoesqueleto | 9 | 0,005 |

| | | |
|--|---|--------|
| Regulación del crecimiento celular | 8 | <0,001 |
| Morfogénesis celular | 8 | 0,001 |
| Organización del citoesqueleto y la biogénesis | 8 | 0,003 |
| Unión a IGF | 5 | <0,001 |
| Transporte intracelular dependiente del citoesqueleto | 5 | <0,001 |
| Actividad de factores de crecimiento | 5 | 0,004 |
| Movimiento basado en microtúbulos | 4 | <0,001 |
| Microsoma | 4 | 0,005 |
| Actividad de la proteína disulfuro isomerasa | 3 | <0,001 |
| Filamentos de actina | 3 | 0,001 |
| Vía de señalización neuropéptido | 3 | 0,003 |
| Regulación positiva de la I-kappa B quinasa / NF-kB en cascada | 3 | 0,005 |

Tabla modificada de Mitko et al., 2008.

2.1.2.1.4.- Proteoma

El proteoma uterino está compuesto de proteínas trasudadas de la sangre y por proteínas secretadas por el epitelio uterino (Roberts y Parker 1974). Las proteínas del suero sanguíneo se transfieren al lumen del útero tras atravesar el endotelio y el epitelio uterino, estas estructuras actúan como limitante para el flujo de moléculas del suero al fluido uterino (McRae 1988, Avilés et al., 2010). Los trabajos que han investigado la composición del proteoma del útero bovino son escasos. Los trabajos publicados hasta ahora se centran especialmente en el período preimplantacional (Forde et al., 2014, Beltman et al., 2014, Faulkner et al., 2013), otro se encarga del análisis comparativo entre las proteínas del plasma y las del fluido uterino en el día 7 del ciclo estral (Faulkner et al., 2012), dos trabajos más hacen una comparativa entre vacas gestantes y no gestantes (Berendt et al., 2005, Ledgard et al., 2009), desarrollo embrionario temprano (Muñoz et al., 2012a). En otro trabajo se analiza el efecto de los embriones sexados sobre el proteoma uterino (Gómez et al., 2013); pero hasta el día de hoy no hay ningún estudio que sea de nuestro conocimiento del proteoma uterino en las

diferentes fases del ciclo estral en el bovino. Basado en los trabajos anteriormente citados identificamos hasta 157 proteínas diferentes contenidas en el fluido uterino bovino (Anexo I).

2.1.2.2.- Oviducto

Los oviductos llamados así en los mamíferos o también llamados trompas de Falopio en los primates incluyendo la mujer, son un par de ductos que se extienden desde los ovarios hasta la porción más distal del útero. El oviducto juega un papel importante en el transporte, almacenamiento y adquisición de la capacidad fecundante de los gametos, bloqueo de la polispermia, así como para el desarrollo embrionario temprano (Hunter 1998, Holt y Fazeli 2010, Coy et al., 2012). El papel que desempeña el oviducto en los procesos reproductivos se discutirán a lo largo de esta revisión.

2.1.2.2.1.- Anatomía

En la vaca, el oviducto mide alrededor de 25-30 cm. Este desciende primero ventralmente al ovario y a bastante distancia de él asciende bruscamente hacia el centro de las espirales del cuerno correspondiente, hasta que termina en dirección caudal uniéndose al extremo de dicho cuerno (Fig. 7).

El oviducto de los mamíferos domésticos presenta cuatro regiones conocidas: infundíbulo, ámpula, istmo y la útero-tubárica (Hunter 1998). El infundíbulo es la estructura por la cual se conecta el ovario y el oviducto, es una estructura asimétrica en forma de embudo, que consta de prolongaciones digitiformes (fimbrias) adyacentes al ovario que permiten la captación del ovocito, estas fimbrias constituyen el tercio distal de esta porción del oviducto. Esta porción también brinda una comunicación con la cavidad peritoneal (Yaniz et al., 2000, Yaniz et al., 2006). Este componente del oviducto tiene como finalidad el transporte de los ovocitos, (Yaniz et al., 2000, Yaniz et al., 2006). El infundíbulo muestra un borde anular que delimita su abertura; esta se muestra bordeada por numerosas placas o fimbrias tubáricas, una de

estas fimbrias adquiere un especial desarrollo y forma el ligamento tubo-ovárico. Este ligamento tiene una gran importancia a la hora de la recogida de los ovocitos en el momento de la ovulación. En el infundíbulo se abre el orificio abdominal de la trompa que marca el tránsito entre las partes infundibular y tubular del órgano.

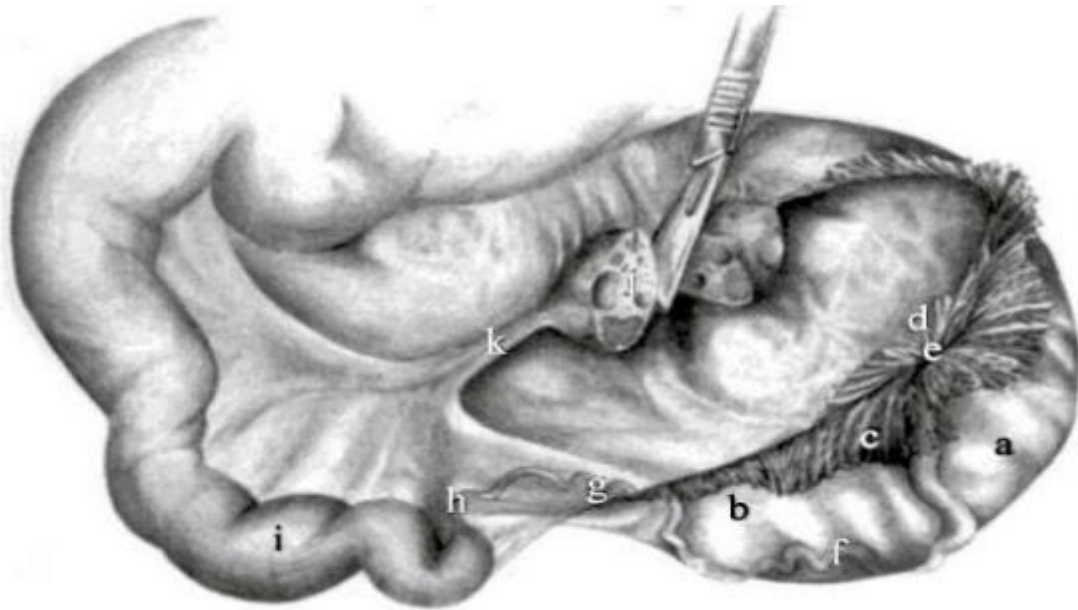


Figura 7 Representación esquemática del oviducto y las estructuras adyacentes en la especie bovina. Mesosalpinx (a); ligamento infundíbulo-cornual (b); lado ancho del infundíbulo (c); fimbrias (d); Infundíbulo (e); ampolla (f); Istmo (g); unión útero-tubárica (h); cuerno uterino (i); ovario (j); ligamento propio del ovario (k). Tomado de Yaniz et al., 2000.

La ampolla es la porción media del oviducto y de mayor longitud, ocupa aproximadamente la mitad de la longitud total del oviducto, se extiende desde el infundíbulo hasta la unión istmo-ampular; esta región es de suma importancia, ya que en ella ocurre la fecundación (Hunter, 1998). El istmo forma el tercio proximal del oviducto y está adyacente al útero. En el istmo también ocurre la capacitación de los espermatozoides (Hunter, 1998). El sitio de unión con el útero se le llama unión útero-tubárica (UTJ) (Fig. 8).

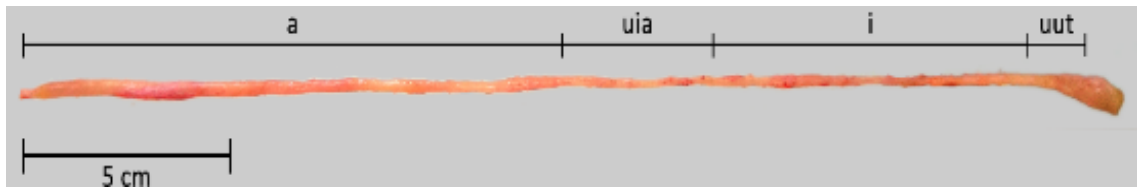


Figura 8 Diseción de oviducto bovino. Se muestra las tres regiones, ampolla (a), unión istmo-ampular (uia), istmo (i) y unión útero- tubárica (uut).

2.1.2.2.2.- Histología del oviducto

La pared del oviducto se compone por tres capas de tejido; la túnica serosa o capa más externa, la túnica muscular o capa media, y la túnica mucosa o capa más interna (Fig. 9). La túnica serosa está compuesta por mesotelio que se continúa con el peritoneo, y el tejido conectivo. La túnica muscular consiste en una combinación de músculo longitudinal en la parte más externa y una capa interior de músculo circular. La capa muscular envuelve a la mucosa a lo largo de todo el oviducto. La túnica muscular es más gruesa en la región ístmica, cerca de la unión con el útero y gradualmente disminuye en espesor hacia la región ampular, finalmente desaparece en el infundíbulo (Muglia et al., 1997, Lombard et al., 1950).

La mucosa es una túnica de tejido altamente plegado, con cuatro a ocho pliegues en la región ístmica y hasta 40 en la región de la ampolla. En la ampolla estas rugosidades contienen ramificaciones secundarias y terciarias (Lombard et al., 1950). La mucosa está formada por un epitelio columnar simple y una lámina propia de tejido conjuntivo laxo.

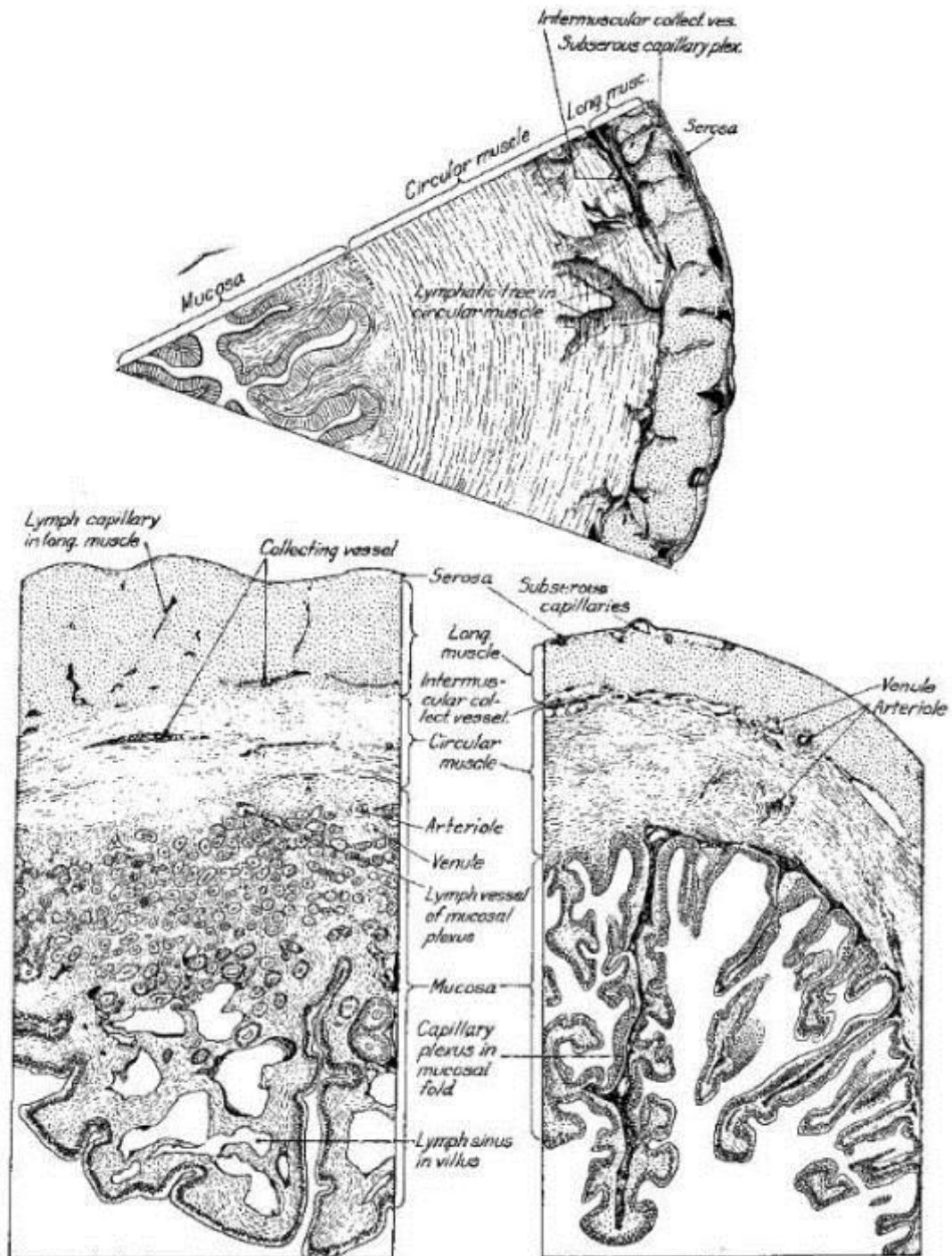


Figura 9 Esquema de la histología del oviducto de cerda. Secciones transversales del istmo (arriba), la unión útero-tubárica (izquierda), y de la ampolla (derecha). Tomado de Hunter, 1998.

El epitelio posee dos tipos de células, unas son ciliadas y las otras secretoras (Fig. 10). Los cilios se mueven en dirección al útero, provocando el movimiento de la capa de moco que recubre la superficie. Este líquido consta principalmente de productos de las

células secretoras, que están interpuestas entre las células ciliadas. Las células no ciliadas están abundantemente distribuidas a lo largo de la ampolla en muchas especies. La estructura interna de las células secretoras del oviducto es típica de las células que sintetizan proteínas activamente, con muchos gránulos de secreción (Brenner y Slayden 1994).

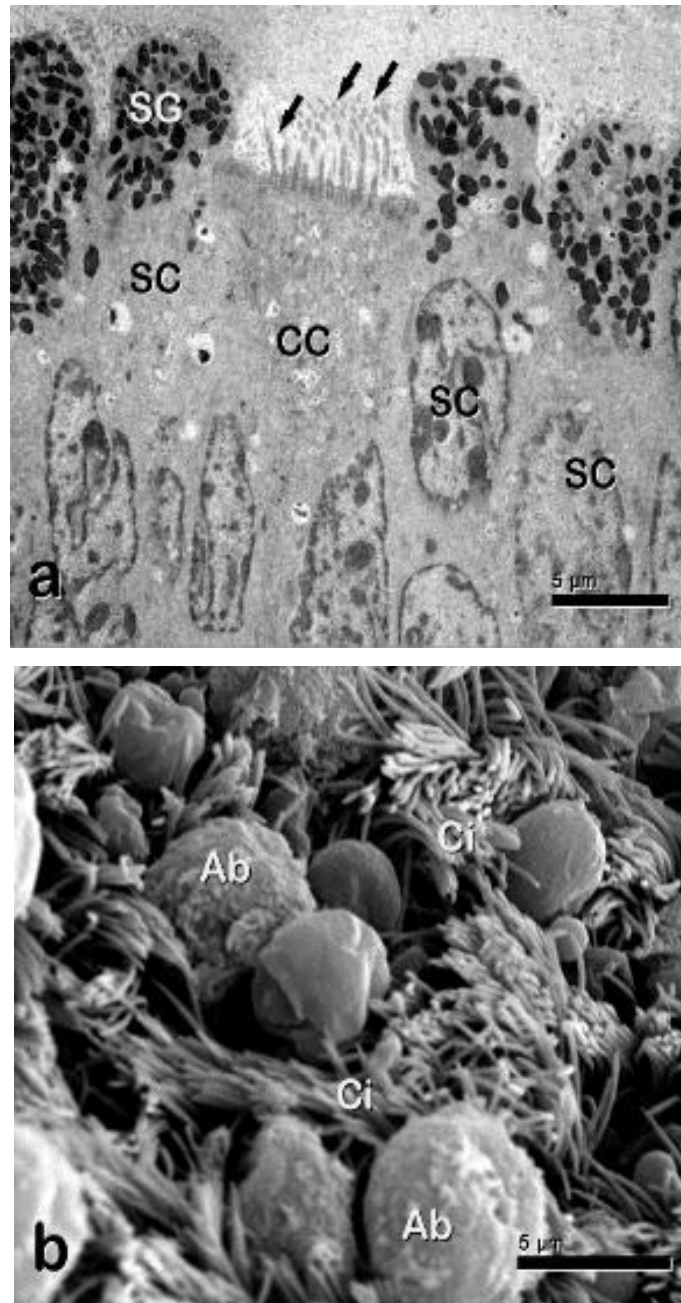


Figura 10 Imagen por TEM y SEM del oviducto bovino. Células epiteliales de la unión ampular ístmica (UAI) de oviducto bovino. Imagen de TEM de la mucosa del oviducto bovino embebido en epon (a). Imagen de SEM de la mucosa del oviducto en fase folicular tardía (b). Células ciliadas (CC), células secretoras (SC), gránulos secretores (SG) y cilios (CI). Bar: 5 µm.

La altura del epitelio y la actividad secretora de estas células llega a un máximo cerca del momento de la ovulación (Hunter 2012). (Fig. 11). Durante la fase folicular, especialmente cuando la ovulación está próxima, los tejidos del oviducto se vuelven progresivamente más tónicos, debido en parte a la condición edematosa de la mucosa y a la congestión de los vasos sanguíneos durante esta fase. Todo ello provoca la reducción de la permeabilidad del conducto por el plegamiento de los pliegues evidentes en la región del istmo (Hunter 2012).



Figura 11 Representación esquemática del endosalpinx en la especie bovina al examen microscópico. Secciones transversales del istmo (a), Unión Istmo-Ampular (b), y la ampolla (c) Se demuestra el incremento comparativo de diámetro desde el istmo hasta la ampolla, así como el aumento de la altura relativa de los pliegues en cada uno. Un segmento longitudinal del sótano del istmo (d), Unión Istmo-Ampular (e), y la ampolla (f) demostrando las diferencias comparativas de dirección de los pliegues secundarios a lo largo de las paredes laterales, así como la estructura de cada segmento. Tomado de Yaniz et al., 2000.

2.1.2.2.3.- Transcriptoma

El análisis del transcriptoma del oviducto en la especie bovina, permitió detectar los niveles de expresión génica de este órgano entre el estro y el diestro. Los resultados revelaron que hasta 37 genes fueron diferencialmente expresados en el estro y 40 en el diestro (Bauersachs et al., 2004), en la figura 12 se observa la clasificación de "Gene Ontology" (GO). En este trabajo también se comprobó que la proteína OVGP1 fue la más altamente expresada por la células epiteliales oviductales hasta 2.7 veces comparando con las otras sondas incluidas en el análisis. Este mismo grupo realizó un análisis comparativo de la expresión génica del oviducto ipsilateral y contralateral, teniendo como resultado 35 genes diferencialmente expresados, de los cuales 27 se corresponden a ipsilateral y 8 en el oviducto contralateral (Bauersachs et al., 2003).

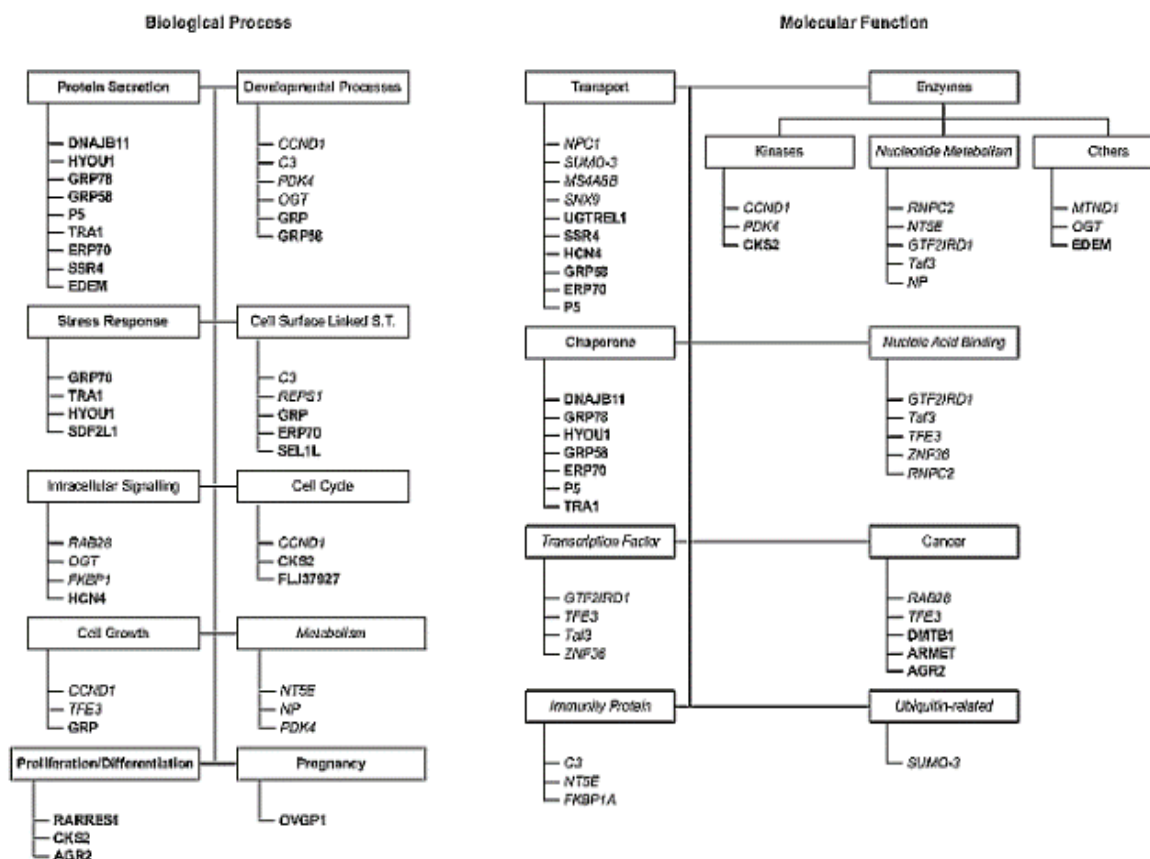


Figura 12 Esquema de GO de genes expresados diferencialmente en estro y diestro en el endometrio bovino. Tomado de Bauersachs et al., 2004.

Un análisis *in silico* realizado en nuestro laboratorio de datos de micromatrices de oviducto humano (Tone et al., 2008) ("*Gene Expression Omnibus*" (GEO) con numero de acceso GSE10971), demostró que hasta 5703 genes son expresados por el oviducto humano en la fase folicular (Mondejar et al., 2012), al hacer la clasificación con la herramienta bioinformática DAVID 6.7 (Huang et al., 2009a, Huang et al., 2009b) de estos genes nos encontramos que hasta 245 genes fueron clasificados como que sintetizan a proteínas "Secretadas" (Fig. 13).

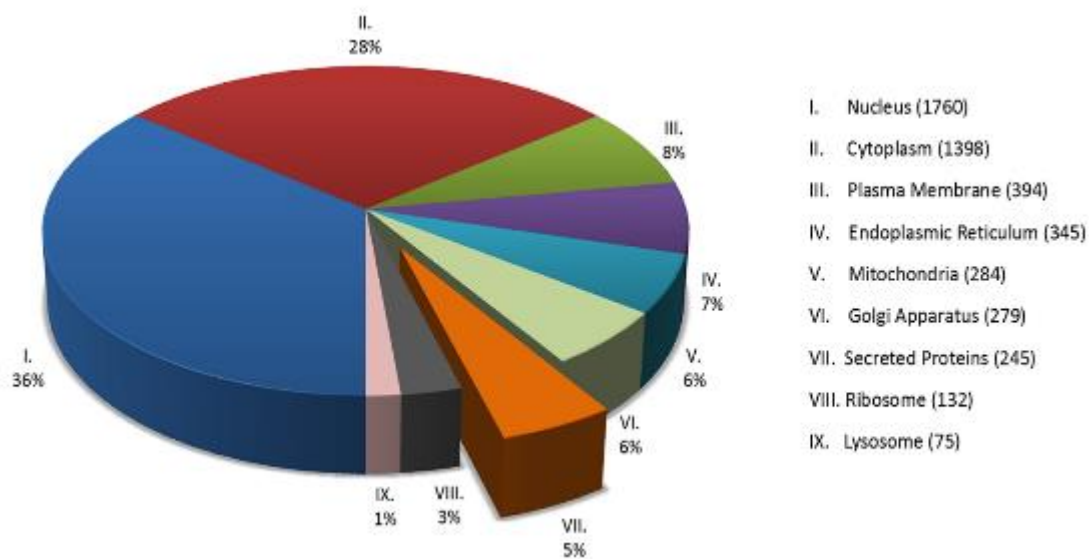


Figura 13 Clasificación por localización de genes expresados en la trompa de Falopio normal (GEO: GSE10971). Se observa la agrupación de genes de acuerdo a la clasificación de la herramienta bioinformática DAVID. Tomado de Mondejar et al. 2012.

El análisis ontológico posterior fue realizado con la herramienta DAVID, este se muestra en la figura 14.

En este mismo trabajo y con datos publicados del oviducto bovino (diestro, estro y metaestro) (Bauersachs et al., 2003, Bauersachs et al., 2004) y datos propios de oviducto porcino, se observó que hay una cierta homología (81 trascritos) entre la expresión génica de las tres especies estudiadas (Fig. 15). Sin embargo, los datos de bovino eran datos de genes que hasta ese momento se había detectado su expresión en el bovino y aunado a la baja anotación de la base de datos porcino se espera que en la actualidad esta homología sea mucho mayor.

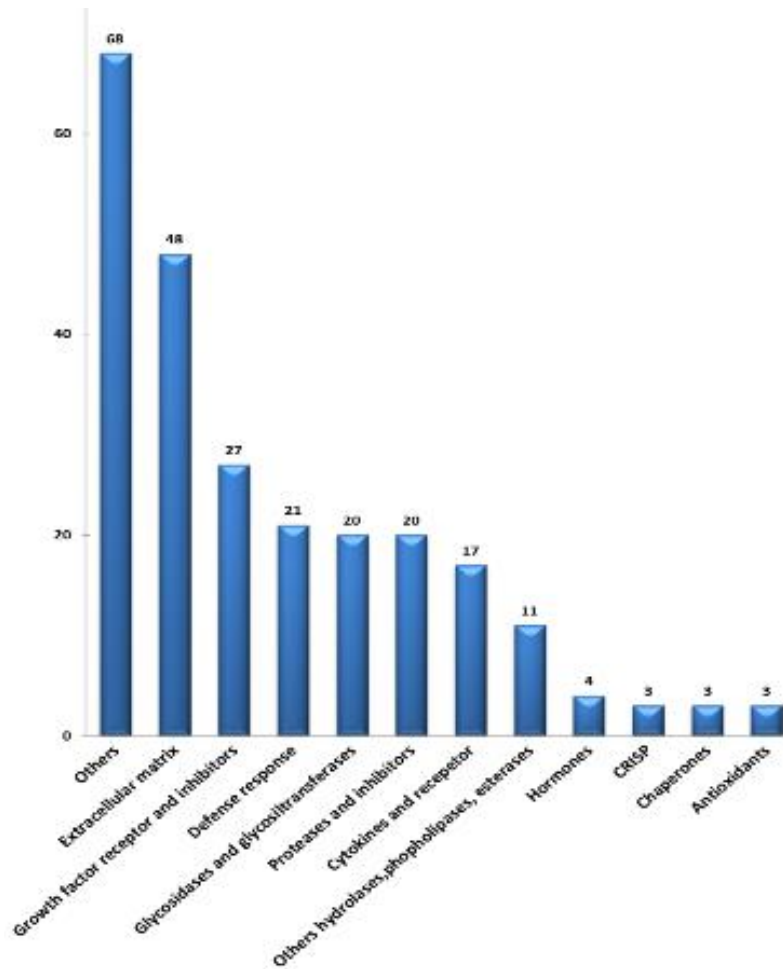


Figura 14 Agrupación funcional de los genes clasificados como "secretados" utilizando DAVID con datos de las trompas de Falopio normales. Tomado de Mondejar et al., 2012.

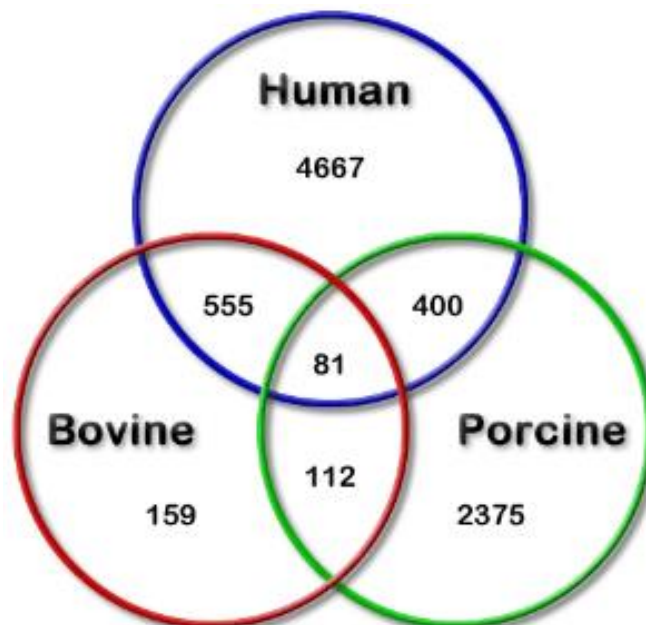


Figura 15 Diagrama de Venn que muestra la superposición de genes expresados oviducto de humano, bovino y porcino. Tomado de Mondejar et al., 2012.

Se ha descrito que el tracto genital femenino tiene un efecto positivo sobre el potencial de fecundación de los espermatozoides que han sido alterados genéticamente (Kawano et al., 2010, Turunen et al., 2012). En el ratón, Kawano et al., en el 2010 describieron la infertilidad *in vitro* de ratones knockout de los genes $Acr^{-/-}$ y $Prss21^{-/-}$, una vez que estos espermatozoides fueron incubados con fluido uterino, estos recuperaron la capacidad fecundante *in vitro* hasta en un 20%. En tanto Turunen et al., en el 2012, también en el ratón observaron una disminución del 80% en la fecundación *in vitro* con espermatozoides knockout $Crisp4^{-/-}$ en comparación con el tipo salvaje, aunque los ratones permanecen completamente fértiles al apareamiento normal. Estos resultados demuestran que el tracto femenino contribuye a mejorar la calidad de los espermatozoides.

Algunos indicios del papel que desempeña el tracto genital femenino en el rescate de los espermatozoides, se dio al observar que proteínas descritas inicialmente en el tracto masculino también eran sintetizadas en el útero o el oviducto. Tal es el caso de la proteína Spam1 que fue descrita en el oviducto y útero del ratón (Zhang y Martin-DeLeon 2003b). En nuestro laboratorio hemos detectado la expresión de ARNm de SPAM1 en oviducto de cerda y vaca (Acuña et al., 2011), también detectamos la proteína SPAM1 en el fluido oviductal bovino (Acuña et al., 2014a) y en los exosomas aislados del fluido oviductal de esta misma especie (Acuña et al., 2014b).

2.1.2.2.4.- Fluido oviductal

El fluido del oviducto es una mezcla compleja de proteínas específicas secretadas por el oviducto, trasudado del suero sanguíneo y electrolitos (Leese 1988, Avilés et al., 2010, Leese et al., 2008). El fluido de oviducto contiene una variedad de iones, azúcares, proteínas y lípidos (Killian et al., 1989, Hugentobler et al., 2010, Hugentobler et al., 2008). En la vaca el fluido del oviducto se produce a una velocidad de 0,2 ml por día en diestro y en 2,0 ml por día en estro (Roberts et al., 1975), por tanto el volumen del fluido en el lumen del oviducto es

dependiente del ciclo estral (Fig. 16), teniendo mayor volumen durante la fase folicular (Hunter 2012).

La composición del fluido del oviducto ha sido revisada por Leese et al., en 2008 y Avilés et al., en 2010. Las proteínas constituyen un importante componente de este fluido. Muchas proteínas presentes provienen del trasudado del suero, en las que se incluyen albúminas, α -, β -, γ -globulinas y lipoproteínas de alta densidad (Tabla 2) (Stanke et al., 1974). Por otro lado, estudios realizados *in vitro* en cultivos celulares de células de epiteliales oviductales han demostrado que el oviducto tiene la capacidad de sintetizar y secretar una gran variedad de proteínas y péptidos.

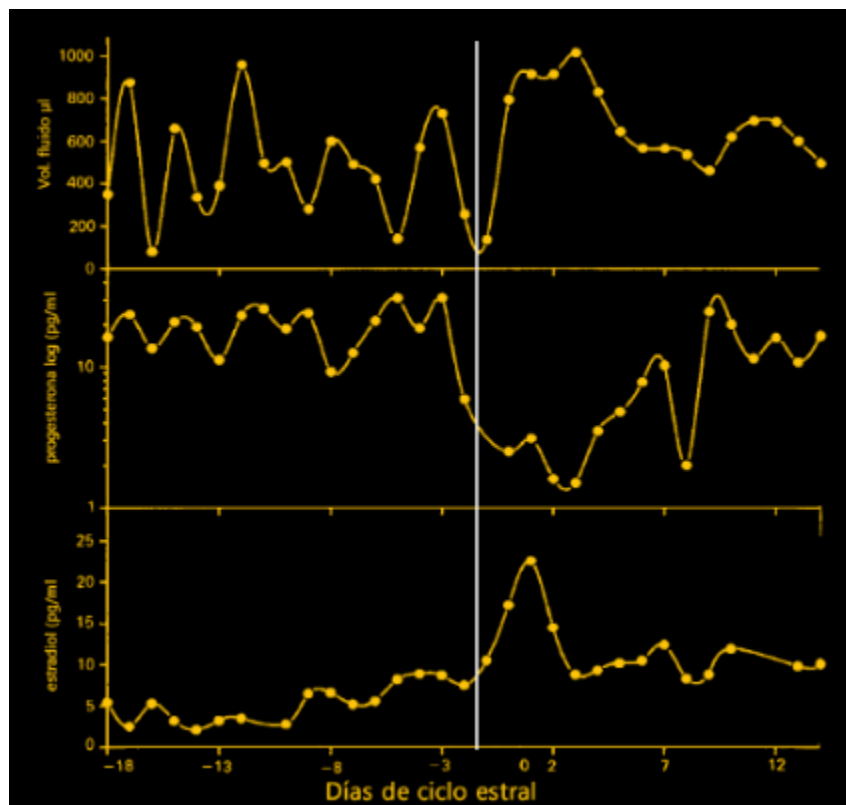


Figura 16 Cambios del volumen fluido del oviducto de las vacas durante el ciclo estral. Los volúmenes máximos de fluido se produjeron inmediatamente después del estro (línea blanca) y correspondían a bajas concentraciones de progesterona, y un pico de estradiol. Modificado de Killian et al., 1989.

Tabla 2 Concentraciones de proteínas totales, albúmina, α -globulina, β -globulina y γ -globulina en fluido del oviducto bovino.

| Estado de ciclo | Proteína total | Albúmina | α -globulina | β -globulina | γ -globulina | Ratio albúmina globulinas |
|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------------|
| Estro | 5-20 \pm 0-80 | 2-18 + 0-27 | 0-67 + 0-09 | 0-64 + 0-12 | 1-71 \pm 0-33 | 0-73 \pm 0-05 |
| Metaestro | 4-04 \pm 0-32 | 1-84 \pm 0-12 | 0-28 \pm 0-04 | 0-50 \pm 0-05 | 1-42 \pm 0-16 | 0-82 \pm 0-06 |
| Diestro | 4-76 \pm 0-20 | 2-06 \pm 0-08 | 0-56 + 0-04 | 0-63 \pm 0-05 | 1-51 \pm 0-09 | 0-78 \pm 0-03 |
| Proestro | 5-01 \pm 0-60 | 2-17 + 0-18 | 0-64 + 0-10 | 0-64 \pm 0-06 | 1-56 \pm 0-27 | 0-78 \pm 0-06 |

Los valores se expresan en g/100 ml y se expresan como medias \pm SE modificado de (Stanke et al., 1974).

La mayoría de las proteínas sintetizadas en el oviducto también se encuentran sintetizadas en otros tejidos, pero hay también unas proteínas específicas del oviducto, descritas en diferentes especies, como en el humano (Verhage et al., 1988), cerdo (Buhi et al., 1990) y vaca (Boice et al., 1990, Gerena y Killian 1990). Dentro de este grupo de proteínas sintetizadas por el oviducto están la glicoproteína específica del oviducto (OVGP1 o Muc9), la osteopontina, integrinas (Gabler et al., 2003), haptoglobina (Lavery et al., 2003), catalasa (Lapointe et al., 1998), glutatión peroxidasa (Lapointe et al., 2005), superoxidodismutasa (Roy et al., 2008), proteínas de matriz extracelular, activador e inhibidor del plasminógeno (Gabler et al., 2001), clusterina, IgA, proteína de choque térmico 70 kDa, antioxidantes (Lapointe y Bilodeau 2003) y varios factores de crecimiento (Gandolfi 1995).

2.1.2.3 Efecto del tracto genital femenino en el espermatozoide

2.1.2.3.1.- Transporte espermático

El paso de los espermatozoides por el tracto reproductor femenino está regulado para maximizar las posibilidades de fecundación y asegurarse de que los mejores espermatozoides sean capaces de llevar a cabo la fecundación con éxito. Puesto que, la

anatomía del tracto genital femenino y los tiempos diferentes en la duración del estro de los mamíferos, el tiempo que permanece el espermatozoide desde la cópula o la inseminación artificial (IA) hasta la fecundación es muy variable. Así, en la especie bovina, el espermatozoide tiene que recorrer el tracto genital desde el fórnix vaginal donde son depositados tras la cópula; en cambio durante la IA, los espermatozoides pueden ser depositados en el cérvix o en el cuerpo del útero (Ball y Peters, 2004).

Varias regiones anatómicas del tracto femenino representan barreras físicas a la progresión de los espermatozoides a través de su tránsito por este. En la mayoría de las especies de mamíferos el cuello uterino y la UTJ juegan un papel en la selección de los espermatozoides (Druart 2012), especialmente en el bovino el cérvix vaginal se ha sugerido que sirve como depósito de espermatozoides (Mattner 1968, Hawk y Conley 1975) revisado por Suarez y Pacey en 2006. Se observó que hasta después de 12 horas tras la IA se recuperaron espermatozoides del cérvix (Mitchell et al., 1985). Sin embargo, este mecanismo no se ha descrito del todo, pero hasta el momento no se ha informado que se asocie a una interacción directa entre la células epiteliales de cuello uterino y los espermatozoides (Rath et al., 2008).

Se ha demostrado que el moco cervical juega un papel central en el control de la migración de los espermatozoides (Druart 2012). Este moco puede servir para guiar a los espermatozoides a través de su microarquitectura (Suarez y Pacey 2006). Este moco principalmente está compuesto por una fracción acuosa y otra de glicoproteínas (Panicker et al., 2010) como las sialomucinas y en menor medida por sulfomucinas (Heydon y Adams 1979). Sin embargo, se ha comprobado recientemente en el humano que hasta 79 proteínas han sido identificadas en el moco cervical (Panicker et al., 2010). La composición del moco cervical está sujeto a cambios morfológicos y bioquímicos durante el estro (Suarez y Pacey 2006, Pluta et al., 2011). Se observó un aumento en el contenido de mucinas neutras y ácidas 48 horas después del inicio del estro, así

como una mayor actividad de β -galactosidasa y sialidasa 12 horas después del inicio del estro (Pluta et al., 2011). En el período del estro el moco es más hidratado permitiendo así una mayor penetrabilidad de los espermatozoides en la fase preovulatoria (Katz et al., 1997, Suarez y Pacey 2006); contrariamente durante la fase con elevadas concentraciones de progesterona, el moco es menos acuoso y casi impenetrable para los espermatozoides. Además la densidad de este moco durante la fase lútea impide la migración de la microflora vaginal nociva hacia el útero (Pluta et al., 2012).

Los espermatozoides tienen que recorrer el cuerpo del útero y los cuernos uterinos antes de llegar a la UTJ. De acuerdo a la velocidad calculada de nado de los espermatozoides (7 mm/min.) (Suarez et al., 2006) los espermatozoides depositados en el tracto femenino tardarían alrededor de una hora para llegar a la UTJ si estos nadaran directamente hasta ahí; sin embargo, para que haya la cantidad de espermatozoides suficientes para lograr la fecundación es necesario un tiempo de < 8 horas (Hunter y Wilmut 1983, Wilmut y Hunter 1984). A esta forma de transporte se le denomina activa. La forma pasiva de transporte de los espermatozoides involucra las contracciones del miometrio. En vacas y ovejas en estro se demostró con electromiografía del útero que hay una fuerte actividad contráctil en este período, mientras que la actividad disminuye durante la fase luteal (Hawk 1987).

En su paso por tracto genital femenino los espermatozoides deben de sortear la respuesta inmune de la hembra. Los espermatozoides contenidos en eyaculados después del coito, están parcialmente protegidos por el líquido seminal, que los protege de ser fagocitados (Suarez y Oliphant 1982). La cantidad de leucocitos presentes en el útero va en aumento a medida que avanza el tiempo hasta superar en número a los espermatozoides, además estos van perdiendo el recubrimiento del plasma seminal. Por ello es de suma importancia que estos atraviesen rápidamente la cavidad uterina para evitar que sean fagocitados (Suarez et al., 2006). Esta protección del

plasma seminal ante los ataques del útero a los espermatozoides, se observó en el ratón, donde la ausencia de la proteína de secreción de vesícula seminal 2 (SVS2) disminuía enormemente la fertilidad *in vivo* (Kawano et al., 2014). Los espermatozoides muertos en el útero de ratones knockout SVS2^{-/-} tenían una membrana ampliamente interrumpida, lo que indicaba que la muerte no había sido provocada por una reacción acrosómica (Kawano et al., 2014).

En la mayoría de las especies, la unión útero tubárica es el principal lugar de almacenamiento de los espermatozoides. Algunos estudios sugieren que el reservorio del oviducto se nutre por un depósito más grande en útero (Pursel et al., 1978). En la especie porcina, se ha demostrado la unión de los espermatozoides a las células epiteliales de la UTJ (Rodríguez-Martínez et al., 1990, Lovell y Getty 1968). Se ha apuntado que los espermatozoides viables se adhieren a las células epiteliales y que esto es parte del proceso de selección del tracto genital femenino (Taylor et al., 2008). Se describió que los espermatozoides que se unían a las células epiteliales mostraban una ultraestructura normal, a diferencia de los espermatozoides que no se unían y presentaban una membrana plasmática dañada (Rodríguez-Martínez et al., 1990).

Otra barrera es la anatomía complicada de la UTJ que evita el mayor ascenso de los espermatozoides; ya que cuenta con pliegues en forma de saco (Yaniz et al., 2000) y un lumen estrecho a forma de válvula (Wrobel et al., 1993). Un factor adicional que los espermatozoides deben sortear, podrían ser las proteínas de superficie del espermatozoide o proteínas de unión, pueden ser requeridos por el espermatozoide para pasar a través de la UTJ; sin embargo, no está del todo esclarecido. En el ratón se ha demostrado que espermatozoides knockout en diferentes genes fueron incapaces para superar la UTJ y perdieron la capacidad de unirse a ZP. Tal es el caso de Calmegin (Ikawa et al., 2001), Calsperin (Ikawa et al., 2011), Adam1a (Nishimura et al.,

2004), Adam2 (Cho et al., 1998), Adam3 (Yamaguchi et al., 2009), PGAP1 (Ueda et al., 2007) y PDILT (Tokuhiko et al., 2012).

2.1.2.3.2.- Reservorio espermático

Se demostró por primera vez en el hámster que los espermatozoides son atrapados al entrar en el istmo oviductal (Yanagimachi y Chang 1963). También fue descrito este reservorio oviductal en otras especies de mamíferos como la vaca (Hunter y Wilmut 1984), cerda (Hunter 1981) y oveja (Hunter y Nichol 1983). El oviducto proporciona una especie de refugio, ya que a diferencia de los otros órganos del aparato reproductor femenino, no hay afluencia de leucocitos (Rodríguez-Martínez et al., 1990). En la vaca, se demostró que los espermatozoides mantienen su viabilidad y su capacidad de fecundación después de permanecer en el reservorio (Pollard et al., 1991, Suarez 2008). Este reservorio tiene un efecto en la reducción de la poliespermia porque evita que un excesivo número de espermatozoides estén presentes en el sitio de la fecundación, debido a que los espermatozoides son liberados muy gradualmente durante el período periovulatorio (Hunter 1973, Hunter y Leglise 1971), permitiendo con ello asegurar que los espermatozoides estén disponibles en un estado fértil en el momento de la ovulación (Suarez 2008).

Se ha observado que los espermatozoides móviles se unen con la cabeza a la parte apical de las células epiteliales del oviducto (Fig. 17). Diversos trabajos han estudiado las moléculas implicadas en la unión de los espermatozoides al epitelio del oviducto, se ha observado que las proteínas de unión del espermatozoide o "*binding sperm proteins*" (BSP) están involucradas en este proceso (Gwathmey et al., 2003). Las proteínas BSP están localizadas en la cabeza de los espermatozoides y son adquiridas por los espermatozoides al ser eyaculados; debido a que estas proceden de las vesículas seminales.

Se sabe que las BSP componen aproximadamente el 70% del contenido total del líquido seminal (Nauc y Manjunath 2000, Manjunath y Sairam 1987). Cuando el espermatozoide de toro entra en contacto con las secreciones vesiculares del plasma seminal, las proteínas BSP se adhieren a la superficie de este, mediante la asociación con los fosfolípidos de la membrana plasmática (Desnoyers y Manjunath 1992, Hung y Suarez 2010, Suarez 2008, Gwathmey et al., 2006).

Previamente se ha descrito en la especie bovina que la interacción del epitelio con las células epiteliales del oviducto está mediada por mecanismos de reconocimientos de carbohidratos (Lefebvre et al., 1997). El azúcar fucosa presente en el trisacárido Lewis-a, fue identificado como un componente clave en la unión del espermatozoide al oviducto (Suarez et al., 1998). Utilizando este trisacárido en una cromatografía de afinidad se determinó que la principal proteína de unión fue la proteína PDC-109 o BSP-A1/A2 (Ignotz et al., 2001, Gwathmey et al., 2003) que es una proteína BSP. La proteína BSP-A1 tiene un peso molecular aproximado de 16 kDa y consta principalmente de dos dominios tipo fibronectina II. Posteriormente, en experimentos realizados *in vitro* se demostró que las proteínas BSPA3 y BSP30K, también podían participar la unión de los espermatozoides al epitelio oviductal (Gwathmey et al., 2006).

Se plantea que las diferentes BSP de la superficie de los espermatozoides se unan al epitelio del oviducto con diferentes afinidades y cinéticas (Hung y Suarez 2010). Además de su participación en la unión al epitelio oviductal, se demostró que la BSP-A1/A2 interviene en mantener la fertilidad de los espermatozoides durante su almacenamiento en la mucosa oviductal; ya que reduce la fluidez de la membrana e inmoviliza el colesterol en las membranas de fosfolípidos, incluyendo las de los espermatozoides (Greube et al., 2001). Esta puede contribuir a la estabilidad de la membrana por inhibición de la actividad de la fosfolipasa A2 (Manjunath et al., 1994, Soubeyrand y Manjunath 1997). Por lo tanto, la proteína BSP-A1/A2 puede desempeñar un papel

en la preservación del espermatozoide mientras se almacenan en el reservorio (Suarez et al., 2006).

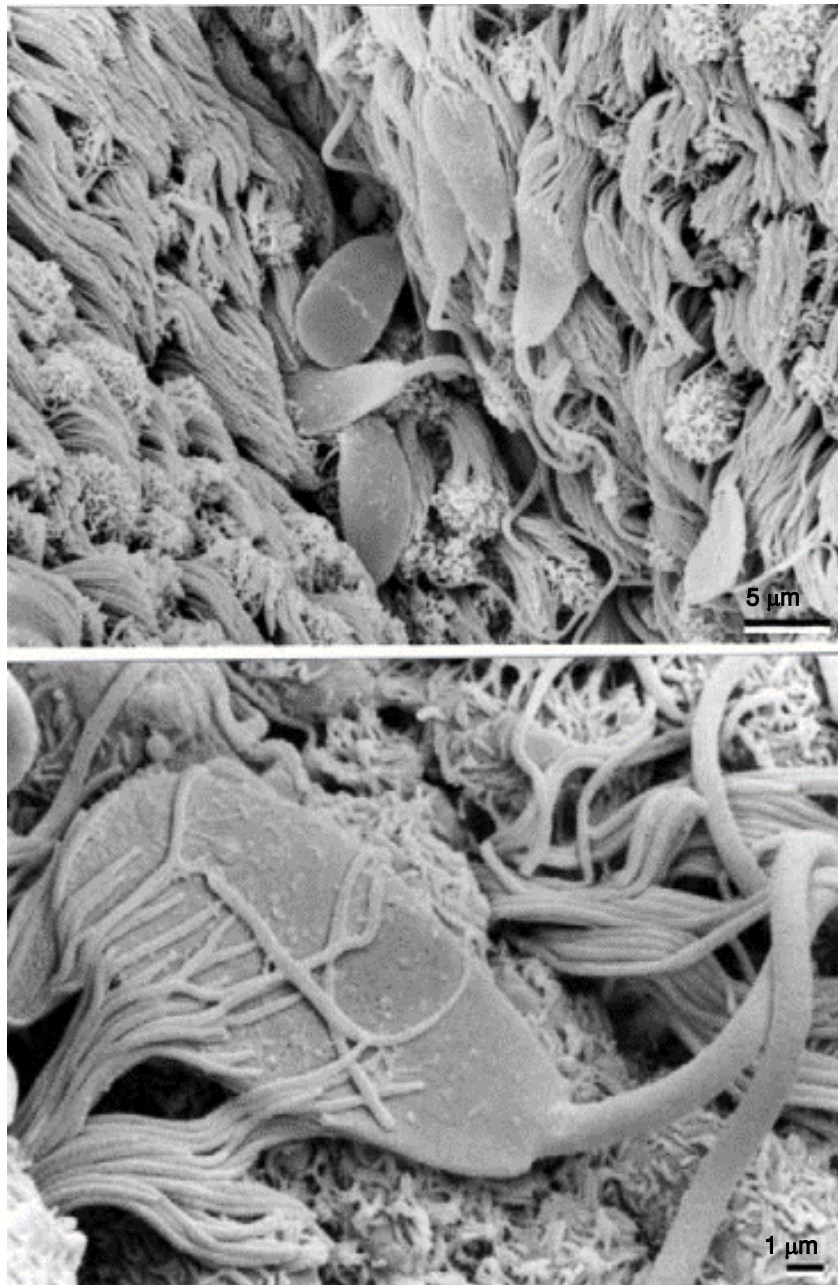


Figura 17 SEM de esperma bovino y epitelio oviductal bovino. Los espermatozoides bovinos entre los pliegues del epitelio oviductal (a). Espermatozoide asociado con los cilios del epitelio (b). Tomado de Lefebvre et al., 1995.

Los receptores en el epitelio oviductal para las proteínas BSP son las llamadas anexinas, esto se demostró cuando se utilizaron las proteínas BSP para ligar a las proteínas extraídas de membranas plasmáticas de células epiteliales del istmo bovino y se reconocieron cuatro anexinas (ANXA1, ANXA2, ANXA4 y ANXA5) (Ignotz et al., 2007). Hasta tres de estas anexinas (ANXA1, ANXA2 y ANXA5) fueron descritas en el oviducto porcino (Teijeiro et al., 2009), por lo que se sugiere que es un mecanismo compartido en diferentes especies. Las anexinas pertenecen a una familia de proteínas que se unen a fosfolípidos y proteínas de unión a membrana en presencia de Ca^{2+} (Rescher y Gerke 2004).

En la especie bovina, los espermatozoides se almacenan en la región ístmica del oviducto durante 18 a 20 horas antes de ser liberados para ascender a la ampolla. Los espermatozoides son liberados poco antes de que ocurra la ovulación (Hunter y Wilmut 1984). Es probable que los cambios hormonales que desencadenan la ovulación también estimulan la liberación de factores en el oviducto que causan cambios en el espermatozoide, que permiten que se liberen a sí mismos del epitelio oviductal (Hung y Suarez 2010). Hay evidencias que dos mecanismos intervienen para que los espermatozoides sean liberados: la hiperactivación y liberación de proteínas de la superficie de espermatozoides durante la capacitación.

2.1.2.3.3.- Capacitación espermática

Los espermatozoides después de la maduración en el epidídimo aún no tienen la capacidad de fecundar. Los primeros estudios que demostraron esta teoría fueron descubiertos después de descubrir que los espermatozoides requerían de una maduración adicional (Chang 1951), esto se comprobó cuando se observó *in vivo* que los espermatozoides recién eyaculados eran incapaces de fecundar los ovocitos hasta que los espermatozoides hubieran permanecido durante un período de tiempo dentro del tracto femenino (Austin 1951, Austin 1952) y cuando mostrando un serie de cambios en su membrana

plasmática y habían cambiado su patrón de motilidad (hiperactivación); estos espermatozoides pueden ser llamados como "capacitados" (Austin 1952). La capacitación se puede definir como un proceso fisiológico que implica modificaciones, bioquímicas, biofísicas y metabólicas de los dominios del espermatozoide, resultando en modificar la arquitectura y permeabilidad de la membrana plasmática, lo que finalmente modula la actividad flagelar y que hace que la cabeza apical de la membrana plasmática del espermatozoide pueda fusionarse con el ovocito y llevar a cabo la fecundación (Rodríguez-Martínez 2007).

La capacitación espermática *in vivo* es un proceso que es complicado de confirmar; sin embargo, algunos eventos han sido descritos. Se sabe que la capacitación es un proceso que se lleva a cabo en el útero y oviducto en diferentes especies (Yanagimachi 1994b). En el bovino se observó que la capacitación comienza durante la migración de los espermatozoides a través del útero, pero se completa en el oviducto (Parrish et al., 1989).

Los espermatozoides son secuencialmente expuestos a los fluidos del útero y oviducto, estos fluidos son capaces de regular la velocidad del proceso de capacitación. Este es un proceso de coordinación activa y específica de las diferentes regiones del útero y oviducto, cuya finalización está sincronizada al período de ovulación (Hunter y Rodríguez-Martínez 2004). Estudios *in vivo* en la especie porcina demostraron que la capacitación espermática no es un evento que ocurre masivamente en el tracto femenino en el período pre- y peri-ovulatorio; pero si se observó un aumento significativo de espermatozoides capacitados durante el período postovulatorio (Tienthai et al., 2004).

2.1.2.3.3.1.- *Modificación de la membrana plasmática del espermatozoide*

En la especie bovina, las proteínas BSP interactúan específicamente con la heparina y con lipoproteínas de alta densidad, potenciando la capacitación espermática y estimulando la salida de

colesterol y fosfolípidos de la membrana espermática. La pérdida de colesterol de la membrana espermática es un importante paso en el proceso de capacitación (Manjunath y Therien 2002). Antes de la capacitación, el colesterol se concentra en la membrana plasmática de los espermatozoides en microdominios especializados conocidos como balsas de lípidos. Estos microdominios ricos en esterol, son centros de organización que afectan a la distribución de proteínas de la membrana, a la activación de receptores y a la activación de cascadas de señalización (Simons y Ikonen 1997).

Los componentes de los fluidos del tracto genital femenino como el fluido uterino pero principalmente el fluido oviductal, son capaces de eliminar el colesterol de la membrana plasmática del espermatozoide (Visconti et al., 1998). Algunas proteínas que participan en estas modificaciones son la albúmina, se cree que la albúmina actúa durante la capacitación *in vitro* para la eliminación del colesterol de la membrana plasmática del espermatozoide (Go y Wolf 1985, Davis et al., 1979), otro grupo de proteínas que participan en este proceso de reorganización son los glicosaminoglicanos (GAGs), que son muy similares a la heparina probablemente sulfato de heparan (Parrish et al., 1994). Los GAGs probablemente se encuentran en las células epiteliales del oviducto como proteoglicanos (Parrish 2014), estos pueden promover la capacitación mediante la unión y la eliminación de proteínas del plasma seminal (BSP-A1/A2, BSP-A3 y BSP-30-kDa) contenidas en la membrana plasmática del espermatozoide y se cree que inhiben la capacitación (Miller et al., 1990, Therien et al., 1995).

Las proteínas BSPs también interactúan con las lipoproteínas de alta densidad (HDL) para apoyar la salida del colesterol desde la membrana de los espermatozoides (Ehrenwald et al., 1990). Trabajos realizados con espermatozoides de toro, demostraron que la incubación de los espermatozoides con fluido oviductal causó la transferencia neta de aproximadamente el 25% del colesterol de los espermatozoides a las HDL (Ehrenwald et al., 1990).

La restructuración de los lípidos de la membrana plasmática, permiten que su permeabilidad se vea incrementada a los iones Ca^{2+} en la cabeza de los espermatozoides (Parrish et al., 1999). La capacitación *in vitro* en presencia de heparina sugiere que la captación de Ca^{2+} es crítico para la capacitación durante las primeras dos horas de exposición a la heparina (Parrish et al., 1999).

2.1.2.3.3.2.- Fosforilación de proteínas

La aparición de fosfoproteínas es un evento tardío (> 60 min) en el proceso de capacitación y se correlaciona con el inicio de la fertilidad y con el desarrollo de la capacidad de someterse a la reacción acrosómica (Visconti et al., 1995, Visconti et al., 2002). La capacitación espermática también se asocia con un aumento en la fosforilación de la tirosina (Salicioni et al., 2007), esta fosforilación depende de la albúmina (BSA, *in vitro* en medios capacitantes) y Ca^{2+} (Visconti 2009). La capacitación es dependiente de la activación de la vía de señalización de AMP cíclico (cAMP) y la proteína quinasa A (PKA) (Fig.18). Esta fosforilación se ha implicado en la aparición de la hiperactivación de la motilidad, una de las características de la capacitación de los espermatozoides (Naz y Rajesh 2004).

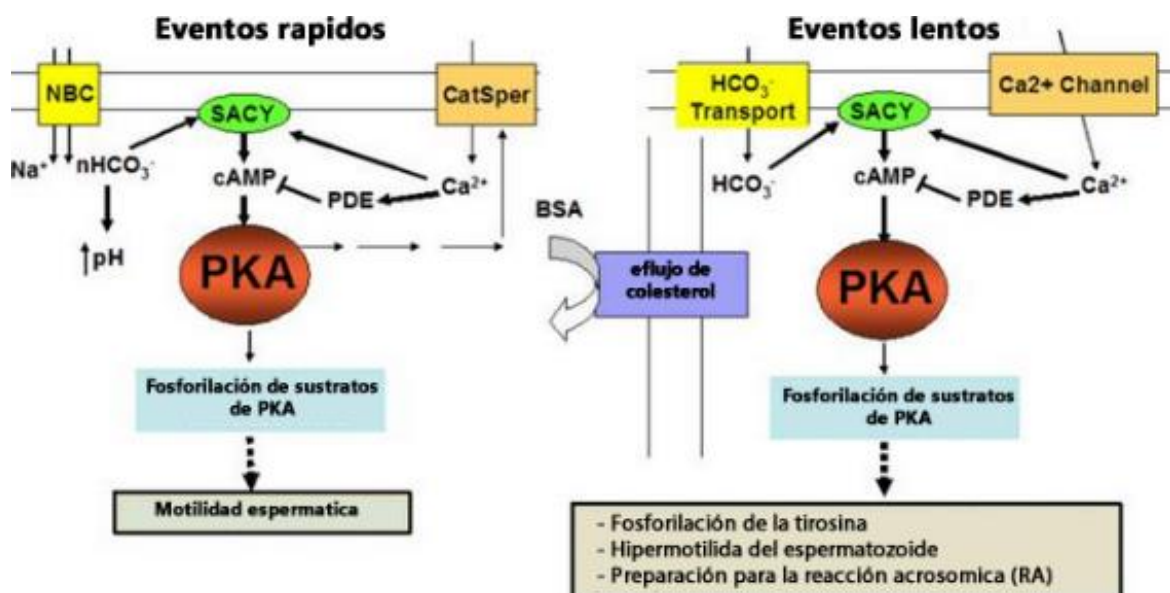


Figura 18 Bases moleculares de procesos rápidos y lentos asociados a la capacitación espermática. Modificado de Visconti, 2009.

2.1.2.3.3.3.- Cambios en los patrones de motilidad espermática

Los espermatozoides procedentes de la cola del epidídimo presentan movimientos flagelares de curvas relativamente simétricas con una amplia longitud de onda, que da como resultado un patrón de natación lineal hacia adelante y progresiva (Florman et al., 2006). En contraste la motilidad de los espermatozoides capacitados, se caracteriza por una alta amplitud de la curva flagelar, un aumento de velocidad y un movimiento lateral de la cabeza (Florman et al., 2006, Yanagimachi 1994b). Esto fue demostrado en el hámster cuando se observó a los espermatozoides capacitados *in vitro* y los que se recuperaron del oviducto al momento en qué estuvieran capacitados *in vivo* (Yanagimachi 1970). La hiperactividad espermática también se describió en el bovino con espermatozoides capacitados inducidos con NH_4Cl y Ca^{2+} (Marquez y Suarez 2007) (Fig. 19).

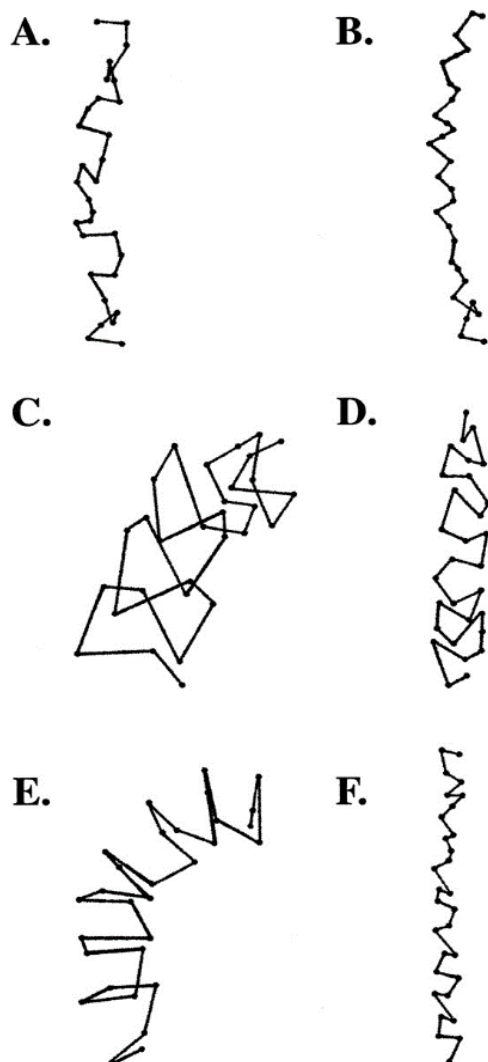


Figura 19 Representación de la hiperactivación espermática. Hiperactivación inducida por NH_4Cl y Ca^{2+} representación del movimiento espermático control (A, B), tratados con NH_4Cl (C, D) y ionomicina (E, F) medio TALP (A, C, E) y medio con 10 mM BAPTA. Los puntos representan la posición de la cabeza en fotogramas en un video de 5 seg. Tomado de Marquez y Suarez, 2007.

La hiperactividad espermática representa una reacción a la capacitación que se manifiesta en el flagelo (Florman et al., 2006). Se ha comprobado que al hipermotilidad espermática tiene diferentes funciones para la fecundación. La primera es que los espermatozoides adquieren la mayor capacidad para nadar eficientemente en sustancias viscoelásticas (Suarez y Ho 2003). Esta capacidad le permite penetrar el moco del oviducto, penetrar el *cumulus oophorus* rico en hialuronano y penetrar la ZP. Otra característica función de la hiperactivación espermática es la que se asocia a la liberación del espermatozoide del reservorio oviductal (Suarez y Ho 2003, Demott y Suarez 1992), para después ascender al sitio de la fecundación auxiliado por otros mecanismos *in vivo* como el flujo del fluido oviductal y las contracciones del miosalpinx (Rodriguez-Martinez et al., 2005). Todos estos mecanismos deben de estar sincronizados para garantizar que el número adecuado de espermatozoides lleguen al sitio de fecundación.

2.2.- ESPERMATOZOIDE

El espermatozoide es una célula altamente especializada, que cuenta con una serie de características estructurales y funcionales que le dotan de la capacidad de ofrecer la carga genética masculina hasta el ovocito, y combinarse con este para dar lugar a un nuevo individuo (Eddy et al., 2006). En este apartado de revisión sobre el gameto masculino se pondrá especial atención sobre el papel que desempeña en la fecundación y la interacción con el tracto genital femenino.

2.2.1.- Espermatogénesis

El espermatozoide es el producto final del proceso denominado espermatogénesis. Este proceso se resume en, cómo las células

germinales inmaduras en el testículo se someten a la división, diferenciación y la meiosis para dar lugar a las células espermáticas alargadas haploides.

La espermatogénesis se lleva a cabo en los túbulos seminíferos de los testículos. En los mamíferos la espermatogénesis se divide en tres fases (Chocu et al., 2012). En la primera fase, células germinales diploides (espermatogonias), localizadas sobre la lámina basal y entre las células de Sertoli, se multiplican por numerosas divisiones mitóticas hasta producir un gran número de células diploides (O'Donnell et al., 2001). Después de la última mitosis de espermatogonias, se forman espermátocitos primarios, estas células replican su ADN para dar comienzo a la meiosis.

La meiosis es la segunda fase, implica la duplicación de los cromosomas, la recombinación genética y luego la reducción de los cromosomas a través de dos divisiones (Hess y de Franca 2008). Después de la primera división meiótica se forma los espermátocitos secundarios, estos rápidamente sufren la segunda división meiótica para producir espermátides haploides esféricas.

En la última fase, las espermátides esféricas pasan a una forma de espermátides alargadas maduras, sin ninguna otra división y se le denomina espermiogénesis (Fig. 20). 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 y de Franca 2008).

El tiempo de duración del proceso de espermatogénesis varía en las diferentes especies de mamíferos. (Tabla 3). Aunque se pueden encontrar diferencias entre cepas o 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 3 Duración de espermatogénesis en diferentes especies de mamíferos.

| Especie | Días | Referencia |
|----------------|-------------|---|
| Ratón | 34–35 | (Clermont y Trott 1969) |
| Hámster | 35–36 | (Clermont y Trott 1969, De Rooij 1968) |
| Cerdo | 34–41 | (Swierstra 1968, Almeida et al., 2006, Franca et al., 2005) |
| Toro | 54-60 | (Hochereau 1963, Franca et al., 2005) |
| Conejo | 48–51 | (Swierstra y Foote 1963) |
| Hombre | 64 | (Heller y Clermont 1964) |

Modificado de Kerr et al., 2006.

2.2.2.- Morfología y Estructura

El espermatozoide tiene una morfología única que le permite transportarse por el lumen de los órganos tubulares del tracto genital masculino y femenino, en este último se abre paso hasta su encuentro con el ovocito en el oviducto. Los espermatozoides de mamíferos cuentan con tres regiones altamente especializadas: la cabeza que participa en la interacción entre el espermatozoide y el ovocito, la pieza intermedia o cuello donde se encuentran la mitocondrias y que participa en la producción de energía y la cola o flagelo que participa en la motilidad (Flesch y Gadella 2000) (Fig. 21). Si bien la mayoría de los mamíferos tienen estas características generales, hay especies sustancialmente diferentes en cuanto al tamaño y forma de la cabeza, longitud y la cantidad relativa de los diferentes componentes del flagelo (Eddy et al., 2006).

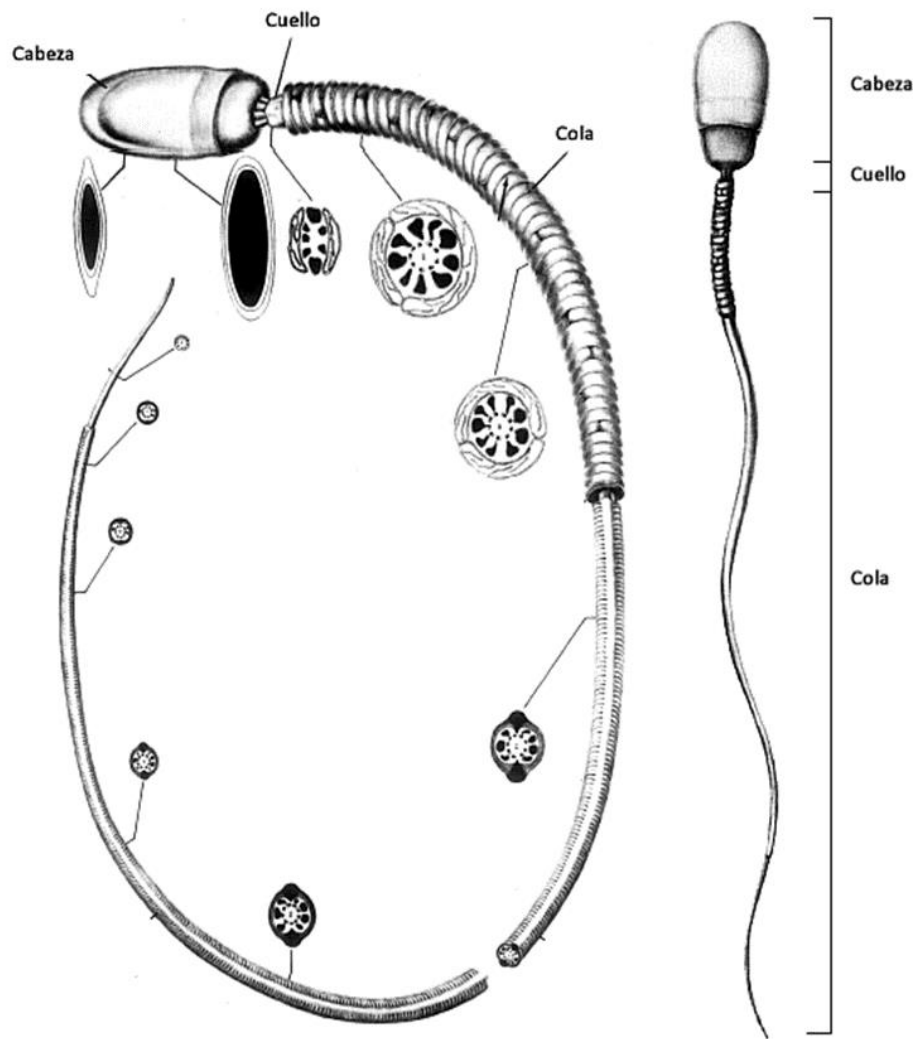


Figura 21 Representación esquemática de un espermatozoide típico de mamífero, señalando las diversas regiones del espermatozoide. Modificado de Fawcett, 1975.

2.2.2.1.- Cabeza

En la cabeza del espermatozoide se encuentran el núcleo y el acrosoma, rodeado de cantidades moderadas de los componentes del citoesqueleto y citoplasma, estos están envueltos en la membrana plasmática. En la mayoría de los mamíferos la cabeza tiene una forma de espátula, sin embargo, los espermatozoides de algunos roedores tienen un cabeza de forma falciforme (Eddy et al., 2006). Las regiones principales de la cabeza de los espermatozoides son: la región acrosomal en la parte más apical y la región postacrosomal, estas están divididas por el segmento ecuatorial (Fig. 22).

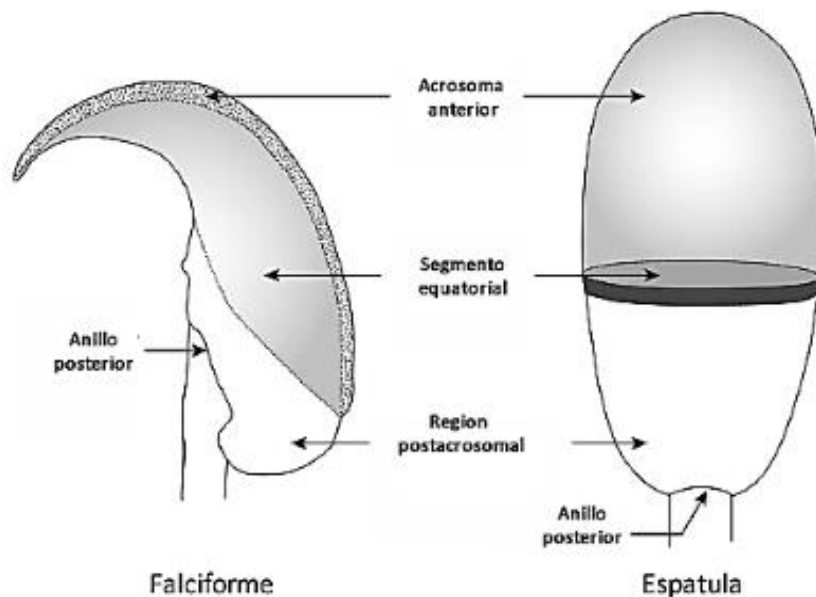


Figura 22 Características generales de la cabeza de espermatozoide de ratón (izquierda) y conejo (derecha). Modificado de Eddy et al., 2006.

2.2.2.1.1.- Acrosoma

El acrosoma es un orgánulo que se origina en el complejo de Golgi y es una estructura ampliamente conservada a lo largo de la evolución de diferentes especies. El acrosoma es una membrana cerrada que se encuentra en la parte anterior de la cabeza de los espermatozoides y está asentado sobre el núcleo del espermatozoide (Eddy et al., 2006). El acrosoma limita el extremo anterior del núcleo y los componentes del citoesqueleto. El acrosoma contiene enzimas hidrolíticas como acrosina, hialuronidasas, hidrolasas y esterasas (Tabla 4), necesarias para que el espermatozoide penetre a través de las envolturas que rodean al óvulo para lograr la fecundación (Eddy et al., 2006, Pesch y Bergmann 2006, Allison y Hartree 1970). La mayor parte del contenido acrosomal se produce durante la espermatogénesis pero algunos empiezan a sintetizarse a finales del paquiteno (Eddy et al., 2006) el contenido acrosomal es liberado durante la reacción del acrosoma (RA).

Tabla 4 Proteínas descritas en el acrosoma de los espermatozoides, en varias especies de mamíferos.

| Símbolo oficial | Proteína | Función | Referencia |
|-----------------|------------------------|--|--|
| ACR | Acrosina, proacrosina, | Unión secundaria con la ZP, hidrólisis de la ZP, actividad proteasa serina | (Mao y Yang 2013, Howes et al., 2001, Polakoski y Parrish 1977, Moore et al., 1993, Guyonnet et al., |

| | | | |
|--------|---|--|--|
| ARSA | Arilsulfatasa A | Unión ZP, desulfatación en sulfoglicolipidos, enzima hidrolítica | 2012, Honda et al., 2002, Mack et al., 1983) (Tulsiani et al., 1998, Xu et al., 2012, Schenk et al., 2009, Nikolajczyk y O'Rand 1992) |
| CRISP2 | Proteína secretora rica en cisteína 2 | Fusión espermatozoide-óvulo | (Foster y Gerton 1996, Nimlamool et al., 2013, Muñoz et al., 2012b, Arangasamy et al., 2011, Cohen et al., 2011, Busso et al., 2007) |
| CTSB | Catepsina B | La hidrólisis de las proteínas con una amplia especificidad por enlaces peptídicos | (Tulsiani et al., 1998, Srivastava y Ninjoor 1982) |
| CTSL | Catepsina L | Importante para la degradación global de proteínas en los lisosomas. | (Tulsiani et al., 1998, McDonald y Kadkhodayan 1988) |
| EQTN | Equatorina asociada al acrosoma de espermatozoide | Se requiere para la RA, unión espermatozoide-óvulo | (Hao et al., 2014) |
| FUCA1 | α -L-Fucosidasa | Hidrólisis de la alfa-1,6 Fucosa | (Tulsiani et al., 1998) |
| GLA | α -Galactosidasa | hidrólisis de alfa-D-galactosa | (Tulsiani et al., 1998, Mack et al., 1983) |
| GLB1 | β -Galactosidasa | Actividad hidrolasas, similares a la lectinas con ligandos ZP | (Majumder y Turkingt.Rw 1974, Nikolajczyk y O'Rand 1992, Tulsiani et al., 1998) |
| GRN | Acrogranin, granulin | Posible actividad similar a citoquinas, actividad proteína quinasa | (Anakwe y Gerton 1990, Baba et al., 1993) |
| GUSB | β -Glucuronidasa | Degradación de sulfatos de dermatán y queratán | (Tulsiani et al., 1998, Mack et al., 1983) |
| HEXB | β -Hexosaminidasa | Degradación de los gangliósidos GM2 | (Tulsiani et al., 1998) |
| HYAL | Hyaluronidase | Degradar el ácido hialurónico | (Zaneveld et al., 1973, Yang y Srivastava 1975, Gould y Bernstein 1975, Mack et al., 1983) |
| MAN2B1 | α -Manosidasa | La hidrólisis de alfa-D-manosa | (Tulsiani et al., 1998) |
| MANBA | B-Manosidasa | La hidrólisis de alfa-D-manosa | (Tulsiani et al., 1998) |
| MC41 | Proteínas intraacrosomal | Unión secundaria ZP, penetración ZP | (Tanii et al., 2001, Saxena et al., 1999) |
| MMP2 | Metalloproteínasa 2 | Penetración ZP | (Gottlieb y Meizel 1987, Ferrer et al., 2012) |
| NAGPA | N-acetilglucosaminidasa | Penetración ZP, unión primaria a ZP, actividad glicosidasa | (Miller et al., 1993, Nikolajczyk y O'Rand 1992, Zitta et al., 2006) |
| NPTX2 | Neuronal pentraxin-2 | Unión y penetración ZP, actividad glicosidasa | (Noland et al., 1994, Kim et al., 2011) |

| | | | |
|------------------|---|--|--|
| Sp-10 (ACRV1) | Proteína acrosomal SP-10 | Supuesta proteína de unión ZP | (Foster et al., 1994, Wright et al., 1990) |
| sp32 | Proteína acrosomal SP32 | Proteína de unión a proacrosina | (Baba et al., 1994, Tardif et al., 2012) |
| SPACA1 | Proteína asociada a la membrana acrosomal de espermatozoides 1 | Infertilidad en ratones con gen fragmentado | (Hao et al., 2002, Fujihara et al., 2012, Guyonnet et al., 2012) |
| SPACA3 | Proteína asociada a la membrana acrosomal de espermatozoides 3 | Enzima asociada a lisosoma no bacteriolítica | (Mandal et al., 2003, Guyonnet et al., 2012) |
| SPACA4 | Proteína asociada a la membrana acrosomal de espermatozoides 4 | Unión y fusión a ZP, similar a Ly6/urokinasa plasminógeno, posible implicación en infertilidad | (Shetty et al., 2003, Malcher et al., 2013, Guyonnet et al., 2012) |
| SPAM1 (PH-20) | Molécula de adhesión de espermatozoide | Unión a ZP, actividad hialorunidasa | (Morin et al., 2010) |
| SPESP1 | Proteína del espermatozoide segmento ecuatorial 1 | Participa en la unión espermatozoide-ovocito | (Wolkowicz et al., 2003, Guyonnet et al., 2012) |
| SYT4 | Sinaptotagmina-IV | Exocitosis acrosomal, proteína de unión a calcio | (Michaut et al., 2001) |
| TESP1 | Proteína TESPA1 | Proteasa serina, posible penetración de ZP | (Kohno et al., 1998) |
| TESP2 | Proteína TESPA2 | Proteasa serina, posible unión a ZP | (Kohno et al., 1998) |
| TRY-5 (TESP4) | Proteína TRY-5 | Penetración de ZP | (Ohmura et al., 1999)(317) |
| ZAN | Zonadhesina | Proteína de unión ZP | (Guyonnet et al., 2012, Hardy y Garbers 1994, Olson et al., 2004, Tardif y Cormier 2011) |
| ZP3R (sp56) | Proteína de unión de espermatozoide-receptor de zona pelúcida 3 | Unión ZP, Interacción ZP post reacción acrosómica | (Foster et al., 1997, Kim et al., 2001) |
| ZPBP1 (sp38) | Proteína de unión de zona pelúcida | Unión ZP | (Lin et al., 2007) |
| ZPBP2 | Proteína de unión de zona pelúcida 2 | Unión ZP | (Lin et al., 2007) |

2.2.2.1.2.-Membrana plasmática

La membrana plasmática rodea el espermatozoide en su totalidad, las principales regiones de la membrana plasmática en la mayoría de los mamíferos son la región acrosomal y la postacrosomal. Esta membrana se caracteriza por que su composición de glicoproteínas y de lípidos es específica de cada región del espermatozoide, a estas regiones específicas se les denominan dominios de superficie son muy importantes para la función de las diferentes áreas de membrana (Eddy et al., 2006). La mayoría de los dominios de membrana se forman en la

espermiogénesis (Cowan et al., 1997), sin embargo, algunos dominios adquieren su forma final y composición después del espermatogénesis.

Estos dominios se caracterizan por ser dinámicos y se someten a cambios en la organización y la composición durante la vida de la célula espermática (Bearer y Friend 1990, Holt 1984). Sin embargo, los mecanismos específicos responsable de la formación y el mantenimiento de los dominios en la superficie del espermatozoide no están bien esclarecidos. Algunos estudios sugieren que la actina y algunas proteínas asociadas a esta, se ven involucradas en la producción o el mantenimiento de dominios en los espermatozoides de varios mamíferos (Eddy et al., 2006). El mantenimiento de los dominios de superficie, depende de al menos tres factores: el primero está dado debido a la restricción de movilidad de las moléculas de superficie una vez que están en su dominio final, el segundo se asocia a la presencia de barreras que impiden la migración de las moléculas entre los diferentes dominios y por último la partición termodinámica de moléculas en sus regiones específicas (Phelps et al., 1990).

En la composición de la membrana plasmática del espermatozoide se ha descrito la presencia de lípidos, esta composición varía entre las diferentes especies de mamíferos, pero en general se ha podido describir que aproximadamente 70% son fosfolípidos, 25% lípidos neutros y un 5% en glicolípidos (Mann y Lutwak-Mann 1981).

Los lípidos de la membrana plasmática del espermatozoide interactúan directamente con las proteínas de los ductos de los tractos reproductivos. Un ejemplo de esta interacción, es la extracción o reorganización de lípidos de la membrana plasmática del espermatozoide por las lipoproteínas (Flesch y Gadella 2000). Este proceso juega un papel importante en la modificación de la composición lipídica en el sitio extracelular de la membrana plasmática del espermatozoide durante la capacitación (Ravnik et al., 1995); como ya fue mencionado en el capítulo de capacitación espermática, algunas de las proteínas que se ha demostrado participar en la movilización y reorganización de lípidos es la albúmina y las proteínas HDL.

Otro tipo de interacción que se da entre la membrana plasmática del espermatozoide y las proteínas presentes en los tractos reproductores del macho y de la hembra son los que intervienen a través del anclaje glicosilfosfatidilinositol (GPI). Es bien sabido que las proteínas de membrana pueden estar unidas covalentemente a la membrana de lípido (Flesch y Gadella 2000). Un ejemplo de estas proteínas es la PH-20 o SPAM1 que más adelante se discutirá detalle su participación en los procesos reproductivos. Otro grupo de proteínas ancladas a GPI y que probablemente están implicadas en la resistencia del espermatozoide a los embates sufridos durante su tránsito por el tracto genital femenino son la CD59, CD55 y CDw 52 (Rooney et al., 1996).

2.2.2.2.- Cuello

El cuello es un segmento de unión entre la cola o flagelo y la cabeza espermática, está compuesto de columnas segmentadas y una estructura densa y fibrosa denominada *capitulum*. El cuello sirve como conector y pieza articular (Pesch y Bergmann, 2006).

2.2.2.3.- Cola o flagelo

El flagelo del espermatozoide de mamíferos esta contituido de cuatro segmentos distintos: el de conexión o cuello, la pieza central, la pieza principal, y la pieza final. Los principales componentes estructurales dentro del flagelo los espermatozoides de los mamíferos son, el axonema, la vaina mitocondrial, las fibras densas externas y la vaina fibrosa.

El flagelo proporciona la fuerza necesaria de movilidad para que el espermatozoide alcance al ovulo en el sitio de la fecundación. Los diferentes elementos del flagelo generan y dan forma a las ondas de flexión que producen la fuerza y la propagación de las ondas de la base hasta la punta (Eddy et al., 2006).

Un gran número de proteínas han sido identificadas en las diferentes estructuras de los espermatozoides, estas proteínas están involucradas en diferentes procesos reproductivos, como la capacitación, la reacción acrosómica, la interacción ovocito

espermatozoide, motilidad y metabolismo del mismo espermatozoide (Fig. 23). La localización de una sola proteína en múltiples sitios en la célula espermática indica su potencial implicación en diferentes procesos fisiológicos del espermatozoide (Eddy et al., 2006).

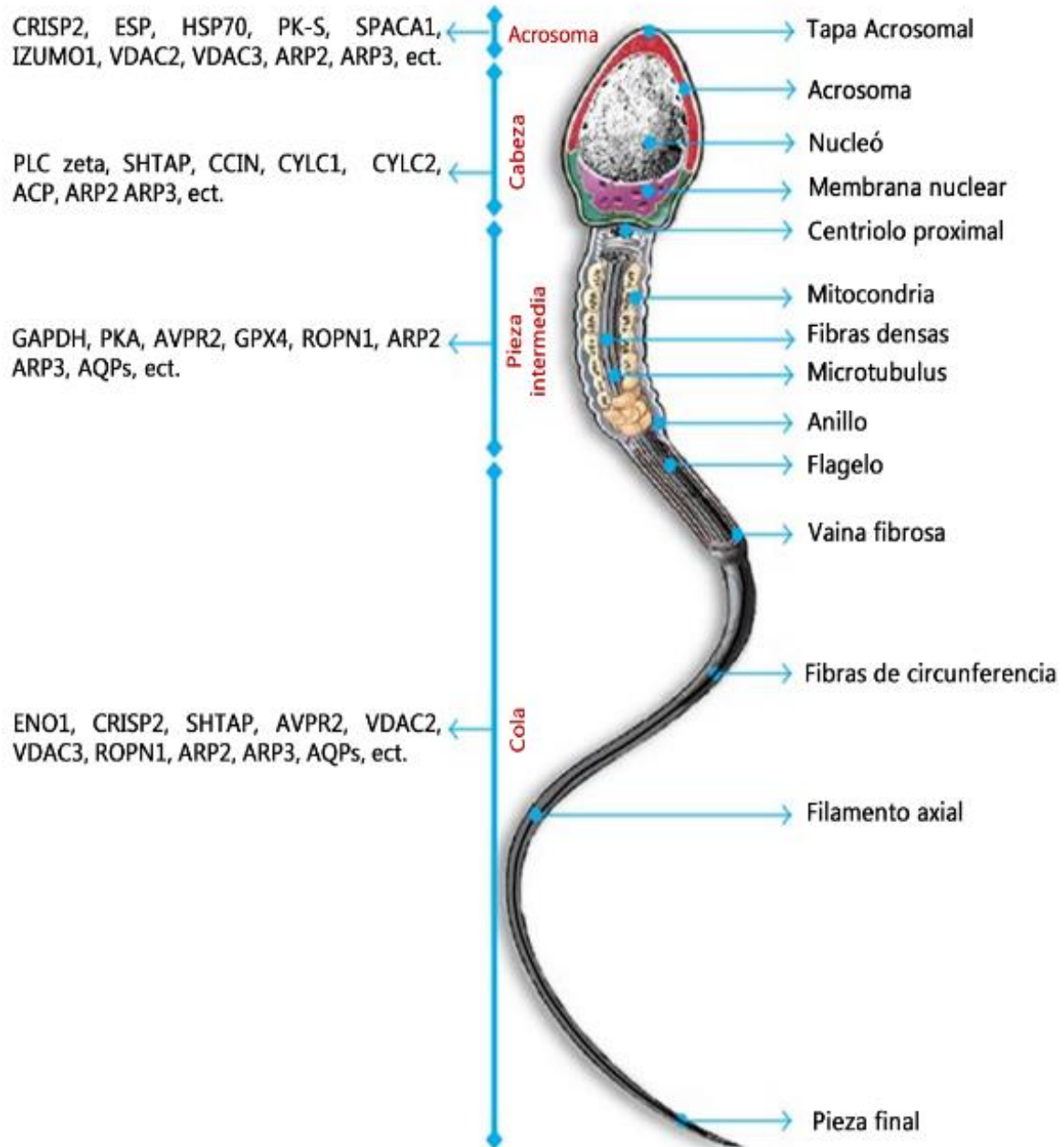


Figura 23 Esquema de las partes del espermatozoide humano maduro con sus diferentes partes. Proteínas localizadas en diferentes regiones, descritas por inmunolocalización en diferentes estudios. Modificado de Rahman et al., 2013.

2.2.3.- Maduración espermática

En los mamíferos los espermatozoides liberados de los testículos no son completamente móviles, ni tienen la competencia para fecundar. En el epidídimo los espermatozoides sufren una serie de modificaciones físicas y químicas donde adquieren la capacidad motriz, que les permite migrar a través en el tracto genital femenino, así como poderse someterse a la reacción acrosómica y adquirir la capacidad de unirse y penetrar la ZP del ovocito y así lograr una fecundación exitosa (Robaire et al., 2006, Dacheux y Dacheux 2014, Park et al., 2012). Las proteínas secretadas en el epidídimo están relacionadas directamente con los cambios de la motilidad y la remodelación de la membrana de los espermatozoides y el acrosoma para que puedan penetrar el ovocito (Cornwall 2009, Dacheux et al., 2009).

La modificación física más importante que adquiere el espermatozoide durante la maduración, es la obtener un movimiento progresivo y hacia adelante. Se sabe que el espermatozoide recién liberado del testículo y debido a la inmadurez de la membrana plasmática, sólo tiene una capacidad de movimiento muy débil o nula (Yanagimachi 1994a, Cornwall 2009). Esta modificación se ha descrito en diferentes especies como el cerdo (Dacheux et al., 1979, Bork et al., 1988), bovino (Acott et al., 1983, Pholpramool et al., 1985) y humano (Mooney et al., 1972, Bedford et al., 1973). Otra importante modificación es la de la migración de la gota citoplasmática, esta estructura se pasa desde la base de la cabeza hasta el final de la pieza intermedia del flagelo (Dacheux y Dacheux 2014, Gatti et al., 2004). Esta característica está asociada directamente a la maduración del espermatozoide, ya que se ha observado que cualquier defecto en dicha migración se asocia con una disminución de la fertilidad del espermatozoide, pero no a la activación de la motilidad (Cooper 2005).

Otras modificaciones de los espermatozoides son los numerosos cambios secuenciales que se producen en la membrana espermática, entre los que se encuentran cambios en la composición de lípidos y proteínas durante su tránsito en el epidídimo (Dacheux y Dacheux 2014, Dacheux y Voglmayr 1983, Cooper 1998). A medida que los espermatozoides se transportan en el epidídimo, algunas proteínas son

integradas a la membrana de los espermatozoides y algunas otras son eliminadas gracias a la acción proteolítica de las enzimas contenidas en el líquido epididimario (Dacheux y Voglmayr 1983, Gatti et al., 2004, Dacheux y Dacheux 2014, Lum y Blobel 1997). Estas enzimas están presentes en grandes cantidades en el fluido epididimario, entre estas se encuentran glicosidasas, proteasas; así, como varios inhibidores (Dacheux y Dacheux 2014). Un ejemplo de la acción proteolítica que induce el cambio de dominio de membrana es la que se observa en la fertilina (Phelps et al., 1990, Blobel 2000) o la degradación de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) (Gatti et al., 1999).

Los cambios en la composición de las proteínas de los espermatozoides se demostró recientemente en el cerdo (Belleannee et al., 2011a) (Tabla 5), ratón (Ijiri et al., 2011) y rata (Baker et al., 2012, Yuan et al., 2006). Mediante la separación por electroforesis DiGE y 2D de proteínas procedentes de espermatozoides capacitados y sin capacitar mostraron que 17 proteínas en el ratón y 60 proteínas en la rata fueron diferencialmente expresadas entre la cabeza y cola del epidídimo. En el cerdo fueron 32 las proteínas que mostraron diferencia en entre ambos grupos. Estos estudios sugieren que cada región en el epidídimo está claramente definida y la mayoría de las proteínas en los espermatozoides de la cabeza y cola tiene funciones específicas de acuerdo a la región en la que se expresan (Park et al., 2013).

Tabla 5 Identificación de proteínas de espermatozoides porcinos maduros e inmaduros.

| Símbolo oficial | Proteína | Función |
|------------------------|---|--|
| ACE | Angiotensina | actividad glucosidasa que libera proteínas ancladas a GPI de la membrana |
| ACO1 | Aconitasa | Sensor de Hierro |
| ACR | Acrosina | Es la principal proteasa de espermatozoides de mamífero. |
| AKR1B1 | Aldosa reductasa | Cataliza la reducción dependiente de NADPH |
| ARSA | Arilsulfatasa | Hidroliza sulfato cerebrósido. |
| CCT2 | Proteína de complejo T β subunidad 1 | Chaperona molecular |
| CCT4 | Proteína de complejo T 1 subunidad δ | Chaperona molecular |
| CCT8 | Proteína de complejo T θ 1 subunidad | Chaperona molecular |
| ENO1 | α -Enolasa | Tiene capacidad para servir como un receptor y activador de plasminógeno en la superficie celular de varios tipos de células |

| | | |
|----------|---|---|
| GSTM5 | Glutati3n S-transferasa Mu 5 | Actividad glutati3n transferasa |
| HIP1 | Huntingtina 1 | Estabilizaci3n de la actina y los microt3bulos de c3lulas de esperm3tides |
| HK1 | Hexoquinasa tipo 1 | Prote3na de membrana integral de espermatozoide de rat3n |
| HSP90AA1 | Prote3na de choque t3rmico HSP 90- α | Chaperona molecular que promueve la maduraci3n, mantenimiento estructural y la regulaci3n adecuada de prote3nas diana espec3ficas |
| HSPA1L | Prote3na de choque t3rmico 70 kDa 1 | Estabiliza prote3nas preexistentes frente a la agregaci3n y media el plegamiento de polip3ptidos |
| HSPA2 | prote3na de choque t3rmico 70 kDa 2 | Estabiliza prote3nas preexistentes frente a la agregaci3n y media el plegamiento de polip3ptidos |
| HSPA4L | Prote3na de choque t3rmico 70 kDa 4L | Posee actividad chaperona <i>in vitro</i> donde inhibe la agregaci3n de citrato sintasa |
| IMPA1 | Inositol monofosfatasa 1 | Responsable de la provisi3n de inositol necesaria para la s3ntesis de fosfatidilinositol y polifosfoinos3tidos |
| ISYNA1 | linositol 1-fosfato sintasa | Enzima clave en la ruta de bios3ntesis de myo-inositol que cataliza la conversi3n de glucosa 6-fosfato |
| LDHAL6B | L-lactato deshidrogenasa A-6B | Fermentaci3n de piruvato a lactato |
| LYPD4 | Dominio LY6 / PLAUR 4 | Componente de membrana |
| MAN2C1 | α -manosidasa | Hidrolisis terminal de alfa-D-Manosa |
| MDH1 | malato deshidrogenasa | Actividad reductasa diiodofenilpiruvato |
| MFGE8 | Lactadherin | Prote3na que puede desempeñar un papel en la interacci3n de gametos zona pel3cida vinculante. |
| PGAM2 | Fosfoglicerato mutasa 2 | Promueve el crecimiento muscular embrionario |
| PGK2 | Prote3na espec3fica de test3culo fosfoglicerato quinasa | Posible marcador de infertilidad masculina |
| PRDX5 | Peroxiredoxin-5 | Reduce el per3xido de hidr3geno e hidroper3xidos de alquilo |
| RAB2 | Prote3na de uni3n a GTP- | Se requiere para el transporte de prote3nas del ret3culo endopl3smico al aparato de Golgi |
| TCP1 | Prote3na de complejo T 1 subunidad α | Chaperona molecular |
| TUBB | β -tubulina | Tubulin is the major constituent of microtubules |
| VCP | Valosin | Es un modulador potencial de la liberaci3n de SAAF del ovocito |
| YWHAZ | 4-3-3 cadena ζ prote3na | |
| ZPBP | Prote3na zona pel3cida 1 vinculante | Pueden estar implicados en la interacci3n de gametos durante la fecundaci3n. |

Modificado de Belleannee et al., 2011^a.

2.2.3.1.- Fluido epididimario

La mayor3a de las prote3nas que se encuentran en este fluido se sintetiza y se secretan por el epitelio del epid3dimo (Park et al., 2012). Cientos de prote3nas han sido identificadas en el fluido epididimario (FE). En el bovino hasta 172 prote3nas han sido identificadas en 218

spots diferentes en gel 2D y tinción de coomassie (Belleannee et al., 2011b), sin embargo, en los mamíferos no más de 20 proteínas representan el 80-90 % del total de las proteínas contenidas en FE (Gatti et al., 2004, Dacheux y Dacheux 2014).

En la especie bovina se describió que 13 proteínas constituyen el 95% del total de la proteína del fluido epididimario, la proporción es la siguiente: La lipocalina 5 (LCN5) (17,3%), clusterina (CLU) (14%), glutatión peroxidasa 5 (GPX5) (13,6%), albúmina (ALB) (13,6%), prostaglandina D2 sintasa (PTGDS) (11,7%), transferrina (TF) (7,5%), Proteína secretora del epidídimo E1 (NPC2) (3,6%), Proteína de fosfoetanolamina 4 (PEBP4) (3,3%), beta-N-acetil-hexosaminidasa (HEXB) (3,2%), glutatión S transferasa (GST) (2,3%), gelsolina (Gsn) (2,2%), actina (1,4%), y beta galactosidasa (Glb1) (1%) (Belleannee et al., 2011b). Las concentraciones y su regionalización de estas proteínas en el epidídimo varían dependiendo la especie (Guyonnet et al., 2011).

Las funciones de las proteínas mayoritarias del FE son muy diversas. La CLU, representa alrededor del 30 % de la secreción total del epidídimo (Dacheux y Dacheux 2014). En el porcino esta proteína puede estar involucrada en la protección de los sitios activos de superficie de los espermatozoides, esta misma propiedad la comparte con otras proteínas contenidas en el FE tales como la lactoferrina (LTF), transferrina (TF), apolipoproteína A-1 (APOA1) y algunas otras proteínas que participan en el glycocalix del espermatozoide (Fabrega et al., 2012).

La GPX5 y la LTF debido a su capacidad de interactuar con la heparina y el ácido hialurónico sugiere que estas podrían jugar un papel decapacitante del espermatozoide (Manaskova-Postlerova et al., 2011), además podrían proporcionar un efecto protector contra la peroxidación de las membranas. Algunas otras proteínas secretadas en el epidídimo involucradas en la reducción de especies reactivas del oxígeno (ROS), son la SOD1 (Angrimani et al., 2013, Park et al., 2012), GPX 4-5 (Chabory et al., 2010, Park et al., 2012), PRDX 2-5 (Nagdas et al., 2014, Park et al., 2012).

Se observó que diferentes proteínas del epidídimo participan en las interacciones de membrana de espermatozoide y ovocito. Esta interacción se basa primordialmente en la transformación de los dominios de superficie de los espermatozoides testiculares y la redistribución de algunas proteínas, tal es el caso de la familia de las proteínas ADAM (ADAM1B, ADAM2, ADAM3, ADAM5, ADAM17 y ADAM32) y las proteínas basigin (BSG) y TEX101 (Dacheux y Dacheux 2014) (Fig. 24). La capacidad de unión del espermatozoide al ovocito también está dada por las proteínas que son adquiridas o absorbidas del epidídimo a la membrana de los espermatozoides, por ejemplo, ARSA, CD52, CRISP1, CRISP4, CRISP7, DCX, EPPIN, MFGE8, SPAM1 y SPINK13 (Dacheux y Dacheux 2014). Algunas de estas proteínas han sido descritas también en el tracto genital femenino de diferentes especies de mamíferos. Lo que sugiere que el tracto femenino puede aportar el déficit o ausencia de proteínas de los espermatozoides y que se sabe que juegan un papel en los procesos reproductivos.

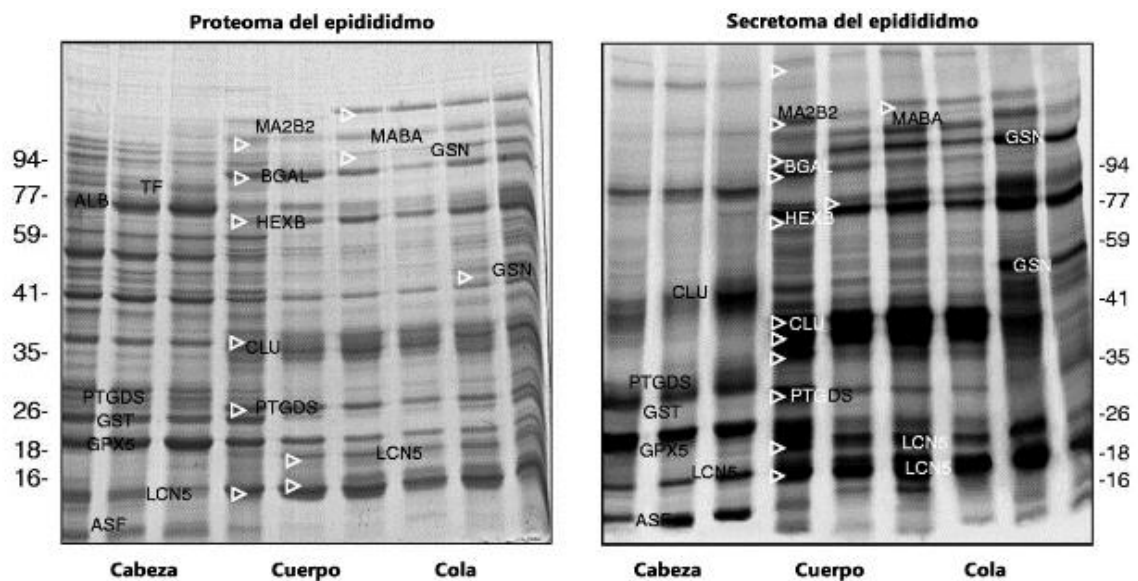


Figura 24 Proteoma y secretoma de epidídimo de bovino en SDS-PAGE. Se cargó la misma cantidad de proteína de nueve zonas del epidídimo correspondientes a las tres regiones principales, se separó por electroforesis en gel 1D y teñido con plata. Modificado de Dacheux y Dacheux, 2014.

La mayoría de estas importantes proteínas secretadas, son solubles en el fluido luminal epididimario; y son secretadas por las vías de secreción merocrina (Sullivan y Saez 2013), que es la forma convencional para secretar las proteínas del epidídimo, la no convencional es para las proteínas que carecen de péptidos señal. Se

demostrado que varias proteínas secretadas que son altamente hidrofóbicas, como algunas proteínas ancladas a GPI, tal es el caso de CD52 (Kirchhoff 1996). El mecanismo de secreción de estas proteínas hidrofóbicas en el fluido luminal todavía no está claro. Algunas de estas proteínas se han encontrado que pueden ser asociarse con vesículas de membrana luminal.

2.2.3.2.- Epididimosomas

Estas vesículas se liberan de la superficie de las células como ampollas vesiculares (Gatti et al., 2005) y epididimosomas (Sullivan y Saez 2013, Girouard et al., 2009). Esta secreción apocrina del epidídimo ha sido descrita con anterioridad (Herms y Jacks 2002, Rejraji et al., 2006). Estos epididimosomas son vesículas de entre 20-100 nm, estas aparecen en la superficie del espermatozoide en la porción distal de la cabeza del epidídimo. Se encontró que estos epididimosomas sólo se unen a la región del acrosoma del espermatozoide (Sullivan y Saez 2013).

La composición proteica de los epididimosomas en el bovino es muy variable, incluso de muestras recogidas de la misma porción del epidídimo (Frenette et al., 2002, Frenette et al., 2003). En el bovino, hasta 231 proteínas de epididimosomas son comunes a las regiones de la cabeza y cola del epidídimo (Girouard et al., 2011). Recientemente se realizó una revisión de epididimosomas donde se encontró la función de 12 proteínas después de haber sido transferidas a los espermatozoides tras la maduración (Sullivan y Saez 2013) (Tabla 6). Los mecanismos de transferencia de epididimosomas a la membrana espermática aún no están del todo esclarecidos, por lo tanto están sujeta a la investigación actual.

Tabla 6 Proteínas de epididimosomas, con funciones conocidas o propuestas una vez transferidas a los espermatozoides durante la maduración.

| Símbolo oficial | Proteína | Función | Referencia | Referencia en tracto genital femenino |
|------------------------|--|--|--|--|
| MIF | Factor inhibidor de la migración de macrófagos | Participa en la motilidad del espermatozoide | (Frenette et al., 2010, Frenette et al., 2006) | (Nahar y Kadokawa 2014, Wang y Goff 2003) |

| | | | | |
|---------------------|---|--|---|---|
| PPFIA3 | Liprina $\alpha 3$ | Reacción del acrosoma | (Joshi et al., 2013) | |
| CSRC | Proteína quinasas CSRC | Cascada de señalización de capacitación | (Krapf et al., 2012) | |
| GPX5 | Glutación peroxidasa 5 | Protección contra el estrés oxidativo (integridad del ADN) | (Chabory et al., 2010) | |
| UBC | Ubiquitina | Eliminación de los espermatozoides defectuoso | (Sutovsky et al., 2001) | (Lin et al., 2013) |
| CD52 (HE5) | Proteína de epidídimo de unión a espermatozoide 5 | Protección contra la respuesta inmune | (Kirchhoff 1996) | (Kumamoto et al., 2009) |
| ELSPBP1 | Proteína de epidídimo de unión a espermatozoide 1 | Eliminación de los espermatozoides defectuoso | (D'Amours et al., 2012b, D'Amours et al., 2012a) | |
| P25b / RAB3B | P25b / Proteína Ras Rab-3B | Interacción espermatozoide-ZP | (Girouard et al., 2009, Frenette y Sullivan 2001) | |
| SPAM1 (PH-20) | Molécula de adhesión del espermatozoide 1 | Diferentes roles en la fecundación | (Martin-DeLeon 2006, Griffiths et al., 2008a) | (Griffiths et al., 2008b, Zhang y Martin-DeLeon 2003b, Acuña et al., 2014b, Acuña et al., 2011) |
| GLIPR1L1 | Glioma patogénesis relacionados proteína 1 | Fecundación | (Caballero et al., 2012) | |
| ADAM2, adam3, Adam7 | Desintegrin metaloproteasas A | Participa en la fecundación | (Oh et al., 2005) | (Yamaguchi et al., 2009) |
| MMSDH | Metilmalonato semialdehído deshidrogenasa | desconocido | (Suryawanshi et al., 2012) | |

Modificada de Sullivan y Saez 2013.

2.2.3.3.- Reacción acrosómica

La cabeza de los espermatozoides tiene un orgánulo llamado acrosoma. Como ya se revisó con anterioridad, su contenido es muy complejo, el acrosoma contiene enzimas lisosomales, hidrolíticas y proteolíticas. La exocitosis de estas enzimas es necesaria para la penetración de las células del *cumulus oophorus* y la zona pelúcida del

ovocito (Florman et al., 2006). Este proceso consiste en la fusión controlada entre la membrana acrosomal externa y la membrana plasmática. El resultado es la formación de vesículas que contienen citosol del espermatozoide atrapado en el espacio intravesicular. La matriz acrosomal se dispersa por un proceso estimulado por la actividad de una proteasa y el contenido de proteínas se libera. (Fig. 25).

Se asumió que la reacción acrosómica debe ocurrir cuando el espermatozoide está ya muy próximo al ovocito. Más específicamente, se ha mostrado que la reacción acrosómica no se inicia sino hasta el contacto con la zona pelúcida (Bleil y Wassarman 1983). Esta idea fue apoyada debido a que se observó que la zona pelúcida solubilizada ocasiona la reacción acrosómica (Florman et al., 2006, Cherr et al., 1986, Florman y Storey 1982, Fukami et al., 2001), incluso una secuencia parcial de ZP3 lograba el mismo efecto (Hinsch et al., 1994). Sin embargo, otros autores mostraron que la ZP intacta no es suficiente para inducir la exocitosis acrosomal (Baibakov et al., 2007), además, algunos espermatozoides que pasan a través del *cumulus oophorus* ya han reaccionado antes de llegar a la ZP (Yanagimachi 1994b).

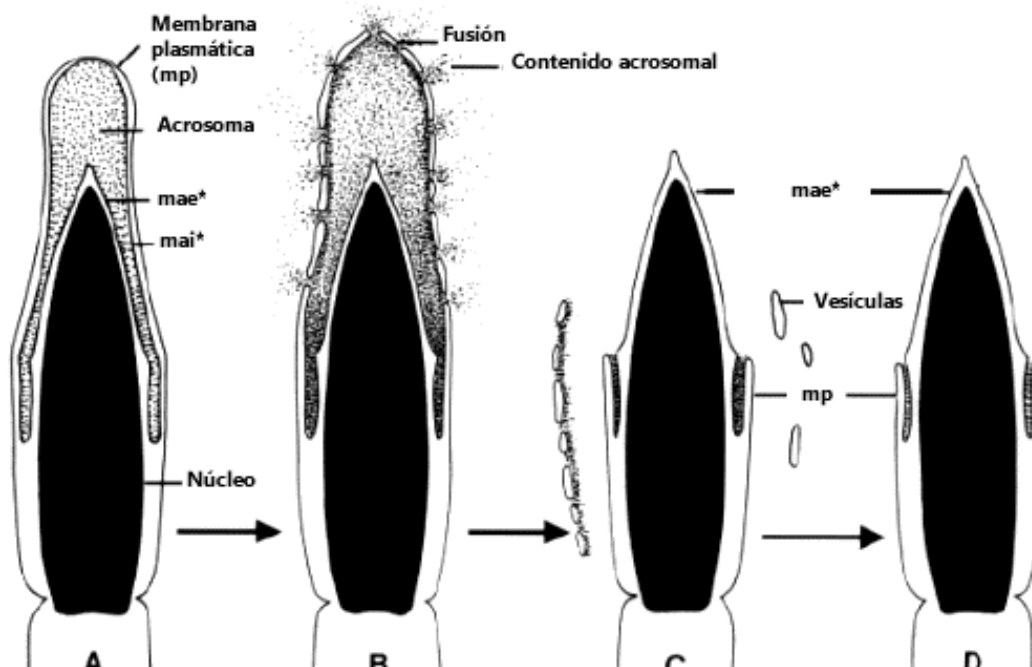


Figura 25 Secuencia de eventos durante la reacción acrosómica del espermatozoide de los mamíferos. Cabeza del espermatozoide con acrosoma intacto (A). Fusión entre la membrana acrosomal externa y la membrana plasmática (B). Vesículas de membrana compuestas híbridas, de plasma y de la membrana acrosomal externa, (C) y (D). mae* membrana acrosomal externa, mai** membrana acrosomal interna. Modificado de Yanagimachi, 1994b.

Con el fin de observar el momento de la reacción acrosómica de los espermatozoides *"in living"*, se creó un cepa de ratones transgénicos con el acrosoma marcado con proteína verde fluorescente (GFP), tras la reacción acrosómica, la fluorescencia desapareció. Se observó también que dentro de los espermatozoides unidos a ZP, había espermatozoides reaccionados y no reaccionados (Nakanishi et al., 1999, Hasuwa et al., 2010). Investigaciones posteriores en fecundación *in vitro*, utilizaron ratones con espermatozoides con el acrosoma GFP; se demostró que la mayor parte de los espermatozoides fecundantes reaccionaban antes de llegar a la ZP (Jin et al., 2011).

Para demostrar si los espermatozoides reaccionados eran capaces de fecundar a otros ovocitos se hicieron investigaciones con ratones knockout Izumo1 (Inoue et al., 2005) y CD9 (Kaji et al., 2000, Le Naour et al., 2000, Miyado et al., 2000), que generan infertilidad debido a que los espermatozoides son capaces de penetrar la ZP pero no de fusionarse con el ovocito. Posteriormente se recuperaron los espermatozoides reaccionados contenidos en el espacio perivitelino y estos después fueron incubados con otros ovocitos y se encontró que fueron capaces de fecundarlos (Inoue et al., 2011). Con estos datos se comprobó que los espermatozoides reaccionados no pierden su capacidad de fecundar. Por lo tanto, una interacción directa entre el espermatozoide y la ZP al parecer no es necesaria para la reacción del acrosoma y por lo tanto puede que no sea "esencial" para la fecundación, incluso *in vivo* (Ikawa et al., 2010) (Fig. 26).

Por otra lado, se sabe en humanos que la progesterona secretada por las células del *cumulus oophorus* pueden inducir la reacción acrosómica (Patrat et al., 2000). La progesterona es inductora a través de un mecanismo de receptores específicos presentes en la membrana espermática de la región acrosomal, causando un transporte de Ca^{2+} hacia el interior.

La cascada de eventos que acontecen durante la RA no es del todo conocida, pero es un hecho demostrado que se activan ciertas quinasas

de proteínas y aumenta la concentración citosólica de Ca^{2+} , provoca la desactivación de la ATPasas, seguida por un aumento del pH intracelular debido al aumento intracelular de Na^+ y la salida de H^+ . La unión del espermatozoide capacitado a la zona pelúcida (ZP) del ovocito activa determinados canales dependientes de Ca^{2+} provocando un aumento intracelular sostenido de este ión (Lievano et al., 1996). El aumento de Ca^{2+} conduce a la activación de la fosfolipasa C (PLC), esta se activa e hidroliza el fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP₂), produciendo inositol-1, 4, 5-trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG). IP₃ abre los canales de calcio sensibles a IP₃ y libera el Ca^{2+} intracelular de depósitos del acrosoma, mientras la DAG media la activación de la proteína quinasa C (PKC), la fosforilación de las proteínas sustrato promueve la exocitosis acrosomal (Lopez et al., 2012). Estos primeros eventos originan una afluencia de Ca^{2+} , a través del receptor de potencial transitorio de canales de cationes (TRPCs), que induce la reacción del acrosoma completa (Ikawa et al., 2010).

Para llevar a cabo la fusión de membranas hay que tener en cuenta que la membrana acrosomal externa y la membrana plasmática son independientes, mediante una estructura de filamentos de F-actina. Antes de la reacción acrosómica, la F-actina debe ser sometida a despolimerización, un proceso necesario que permite la fusión de la membrana acrosomal externa y la membrana plasmática espermática (Breitbart et al., 2005).

Los estudios con espermatozoides con acrosoma GFP, demostraron que la reacción acrosómica es un evento que se va dando gradualmente, mientras la GFP se dispersa en cuestión de segundos (Nakanishi et al., 1999), otros componentes del acrosoma se liberan de forma gradual. Por ejemplo, los antígenos acrosomales MN7 y MC41 permanecen unidos a la cabeza del espermatozoide durante al menos 15 minutos (Nakanishi et al., 2001).

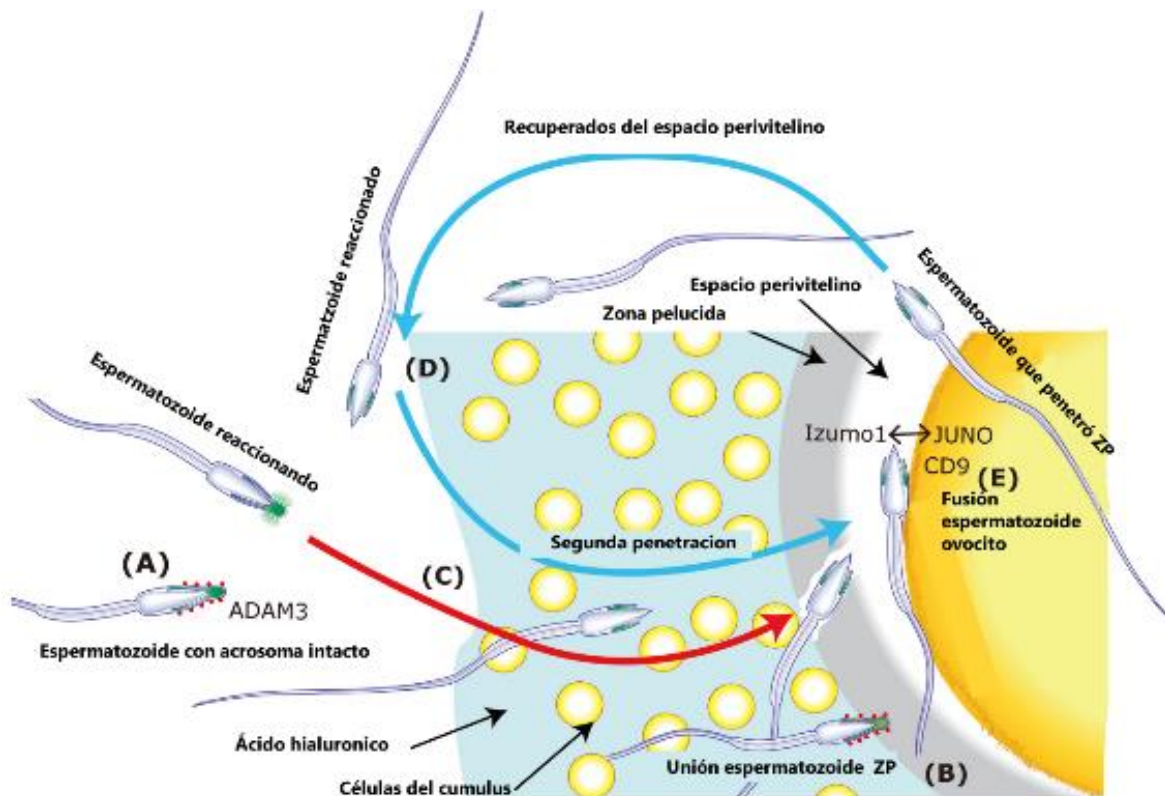


Figura 26 Fecundación desde un punto de vista moderno.

A) La proteína ADAM3 permite a los espermatozoides migrar en el oviducto. B) La expresión de ADAM3 en la superficie de los espermatozoides se consideran esencial para la capacidad fecundante del espermatozoide, ya que permite que se unan a ZP, sin embargo, se encontró que esta capacidad de unión era prescindible. Los espermatozoides que perdieron la denominada capacidad de "unión zona" todavía son capaces de fecundar los óvulos *in vivo*, una vez que han pasado por el oviducto. C) Los espermatozoides debe experimentar la reacción acrosómica. Tomando las observaciones en B); la reacción acrosómica se considera cuando el espermatozoide se une a ZP. Sin embargo, recientemente se demostró que los espermatozoides reaccionan antes del contacto con la ZP. D) Se observó que los espermatozoides reaccionados recuperados del espacio perivitelino podrían penetrar la ZP por segunda vez y fecundar los ovocitos. E) La proteína IZUMO1 en espermatozoides participa en la fusión espermatozoide-ovulo. Esta proteína IZUMO1 se oculta debajo de la membrana plasmática en los espermatozoides intactos, una vez reaccionados migra a la superficie de los espermatozoides. La proteína CD9 en el ovocito juega un papel importante en la fecundación, pero CD9 no parece interactuar directamente con IZUMO1. Recientemente, la proteína JUNO fue identificada como un factor que interactúa con IZUMO1. Modificado de Okabe 2014.

2.3.- MOLÉCULA DE ADHESIÓN DEL ESPERMATOZOIDE 1 (SPAM1)

La molécula de adhesión del espermatozoide 1, del inglés "*Sperm adhesion molecule one*" (SPAM1) también conocida como PH-20 (en

ratón Spam1). Es una proteína de superficie del espermatozoide de los mamíferos, es la proteína más ampliamente conservada de la membrana del espermatozoide. SPAM1 fue identificada por primera vez en el conejillo de indias (Myles y Primakoff 1984), además de haber sido descrita en ratón (Thaler y Cardullo 1995), rata (Zheng y Martin-DeLeon 1999), macaco, humano (Lin et al., 1993, Evans et al., 2003), caballo (Meyers et al., 2000), cerdo (Day et al., 2002; Yoon et al., 2014) y bovino (Lalancette et al., 2001). Esta proteína ha sido descrita en diferentes órganos de mamíferos como el testículo (Zhang y Martin-DeLeon, 2001; Yoon et al., 2014), epidídimo (Deng et al., 2000, Zhang y Martin-DeLeon 2003a), útero, vagina (Zhang y Martin-DeLeon 2003b) y riñón (Grigorieva et al., 2007).

2.3.1.- Estructura de la proteína SPAM1

Se describió en el ratón que Spam1 se puede definir como una glicoproteína de cadena única. En el extremo N-terminal se encuentran los dominios de hialuronidasas que son dos: el que se activa en un pH neutro (forma insoluble) y de pH ácido (forma soluble) (Cherr et al., 2001). El dominio hialuronidasa también contiene un sitio de unión al ácido hialurónico (HA), que juega un papel de señalización en el evento que conduce a la exocitosis acrosomal. El otro dominio funcional de la proteína es el que se encuentra en el extremo C-terminal y es el glicosilfosfatidilinositol ancla (GPI-ancla) (Fig. 27). Gracias a esto se sabe que la proteína al menos participa en tres funciones del proceso de fecundación en los mamíferos.



- SS: Secuencia de señales.
- NH: Dominio de hialuronidasa neutra.
- HA: Receptor del ácido hialurónico.
- AH: Dominio de hialuronidasa ácido.
- ZP: Dominio de unión a zona pelúcida.
- GPI: Glicosilfosfatidilinositol-ancla.

Figura 27 Esquema de la proteína Spam1 del ratón en forma madura. Es una glicoproteína de cadena única que está ligada al GPI-ancla. Las flechas cerca de la N-y C-terminal indican los lugares de corte de la secuencia de señal. Modificado de Martin-DeLeon, 2006.

La proteína SPAM1 en la especie bovina tiene dos isoformas diferentes, una con un peso molecular de 70 kDa y otra de 80 kDa (Morin et al., 2010). En otras especies como en los seres humanos, conejillo de indias, macacos y ratones oscila entre los 64 a 68 kDa. La longitud de la proteína SPAM1 en el bovino es de 553 aa y en el cerdo es de 493 aa. La proteína SPAM1 es codificada por un gen que se encuentra entre los miembros de la familia hialuronidasas, en el cromosoma 4 en la especie bovina y en el porcino en el cromosoma 18 (Day et al., 2002). Las variaciones de peso molecular entre especies pueden atribuirse a la división endoproteolítica de la molécula (Lathrop et al., 1990).

El análisis de la secuencia de aminoácidos en la especie bovina sugiere que en los espermatozoides, SPAM1 carece de GPI-ancla, pero contiene un dominio transmembrana que separa el dominio hialuronidasa desde el sitio de unión de la zona pelúcida en la estructura de SPAM1 (Morin et al., 2010) (Fig. 28).

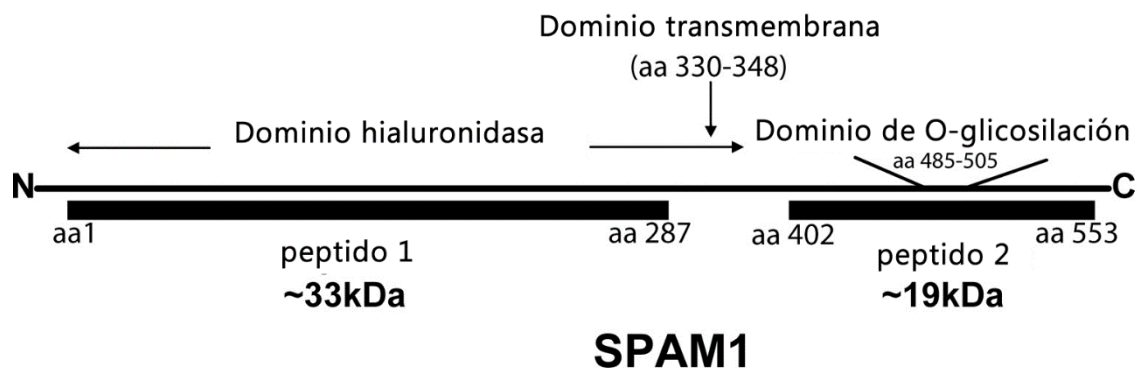


Figura 28 Esquema de la proteína SPAM1 bovino. Modificado de Morin et al., 2010.

2.3.2.- Localización de SPAM1 en el espermatozoide

La proteína SPAM1 se detectó por primera vez en el complejo de Golgi de espermátidas redondas (espermiogénesis) de conejillo de indias, se observó que comienza a producir vesículas que contienen SPAM1 y una abundante cantidad de carbohidratos (Phelps y Myles 1987). Estas vesículas se fusionan para producir el acrosoma naciente.

A partir de ahí, una segunda población de la SPAM1 se inserta directamente en la membrana plasmática del espermatozoide (SPAM1pm). Posteriormente se distribuye en la membrana acrosomal (SPAM1am) y se limita a la membrana acrosomal interna, durante el paso por el epidídimo SPAM1pm se localiza en la superficie posterior de la cabeza (Phelps y Myles 1987).

Se ha observado que dos isoformas de SPAM1 están presentes en los espermatozoides eyaculados de toros. Utilizando el anticuerpo que reconoce el dominio hialuronidasa, se observó una señal positiva en la región postacrosómica en células sin permeabilizar. Cuando las células espermáticas fueron permeabilizadas este anticuerpo también dio señal positiva en el acrosoma. Esta isoforma se detecta en la superficie de los espermatozoides, con su dominio hialuronidasa hacia el medio extracelular. La otra isoforma reconocida con el anticuerpo que reconocer la porción C-terminal detecto señal sólo en la región del acrosoma, en células permeabilizadas incluso después de la reacción del acrosoma (Morin et al., 2010). La electroforesis en 2D reveló que las dos isoformas tienen masas diferentes una de 80 kDa y otra de 70 kDa (Morín et al., 2010).

2.3.3.- Expresión de SPAM1 en testículo y epidídimo

En la espermiogénesis se controla la expresión génica en el nivel de traducción. La abundancia de ARN del gen que sintetiza SPAM1 en los testículos condujo a la noción de que el gen es específico del testículo; sin embargo, se ha demostrado la expresión de ARNm en otros tejidos donde es menos abundante y es detectable usando técnicas de biología molecular e hibridación *in situ* (Zhang et al., 2004). La localización por hibridación *in situ* muestra un patrón de expresión equivalente a un área en forma de anillo dentro de los túbulos seminíferos. Ninguna expresión fue encontrada cerca de la lámina basal (Morales et al., 2004).

La expresión de SPAM1 en testículo y epidídimo es regulada de manera diferente, según lo indicado por diferentes sitios de inicio de transcripción del ARNm (Zhang y Martin-DeLeon 2003a), además de tener diferente cantidad de aminoácidos, la proteína de origen epididimario y testicular tiene diferentes patrones de glicosilación, produciendo dos isoformas. Este hallazgo indica que hay modificaciones postraduccionales específicas de los tejidos de Spam1 (Zhang y Martin-DeLeon 2003a).

En las tres regiones del epidídimo, se observa que SPAM1 es sintetizada por el epitelio epididimario. En ratones, macacos y seres humanos (Chen et al., 2006), se libera al líquido luminal del epidídimo como proteína GPI anclada en vesículas de membrana que presenta actividad hialuronidasa a un pH neutro (típico de la forma insoluble).

Es posible que pueda haber dos fuentes de SPAM1 en el fluido luminal del epidídimo. Las primeras moléculas provienen de espermatozoides y las segundas se sintetizan directamente desde el epidídimo (Zhang y Martin-DeLeon 2003a). Dado que en el epidídimo los espermatozoides adquieren la motilidad y su capacidad fecundante, es probable que la SPAM1 desempeñe un papel en la maduración de los espermatozoides, además este órgano participaría en su almacenamiento (Chen et al., 2006). La ventaja que proporciona el ser una proteína doblemente expresada (testículos y epidídimo), podría ser el aumentar y/o sustituir las isoformas testiculares existentes a través de los lípidos de anclaje.

Cabe señalar que en el ratón, las isoformas del epidídimo y la testicular de Spam1 comparten la misma masa molecular (67 kDa). Sin embargo, en electroforesis en gel de 2D, Spam1 testicular tiene un rango de punto isoeléctrico más amplio, que va desde 6,6 hasta 9,0, en comparación con las isoformas del epidídimo (7.3-9.0) (Zhang y Martin-DeLeon 2003a). En bovino fue demostrado que la SPAM1 obtenida de espermatozoides tenía dos isoformas de 70 y 80 kDa, en el mismo

estudio la proteína SPAM1 que se obtuvo a partir de fluido epididimario se encontró la banda de 80 kDa, además se observó claramente una banda de aproximadamente 55 kDa (Fig. 29) pero desconocemos por qué los autores no discutieron la presencia de esta (Morin et al., 2010).

Investigaciones en el ratón demostraron que Spam1 es depositada en el fluido luminal del epidídimo y del útero en exosomas, llamados epididimosomas y uterosomas respectivamente (Griffiths et al., 2008a). En este mismo trabajo se demostró que los espermatozoides incubados con epididimosomas y uterosomas adquirieron la Spam1, al mirar los espermatozoides en microscopía electrónica se observó que la Spam1 fue localizada en los lugares donde habitualmente se localiza la proteína endógena.

En la especie bovina investigaciones de la proteína P25b demostraron que está contenida en epididimosomas y al incubarse con espermatozoides está se transfiere a los espermatozoides (Frenette y Sullivan 2001, Frenette et al., 2002). Resultados posteriores del mismo laboratorio demostraron, que la incubación de espermatozoides de ratón nulos de Spam1 en fluido oviductal adquirieron la proteína por vía exógena (Griffiths et al., 2008b).

La superficie de los espermatozoides en los mamíferos está muy bien organizada en subdominios (Sullivan y Saez 2013). Las proteínas de los espermatozoides, incluidas las adquiridas en el epidídimo se encuentran en regiones específicas del espermatozoide dependiendo directamente de la funcionalidad de estas (Cooper 1998). La transferencia de las proteínas de los epididimosomas al espermatozoide debe ocurrir de forma tal que las proteínas recién adquiridas son segregadas a subdominios relevantes para cada función por proteína específica (Sullivan y Saez 2013). Los dominios de membrana resistentes a detergentes "*detergent-resistant membrane*" (DRM) enriquecidos en colesterol y enfingomielina, son los que agregan especialmente proteínas ligadas a un anclaje GPI, como es el caso de

SPAM1 (Sullivan y Saez 2013). Con esto se demuestra que los espermatozoides a lo largo del tracto genital masculino y femenino van adquiriendo la proteína SPAM1.

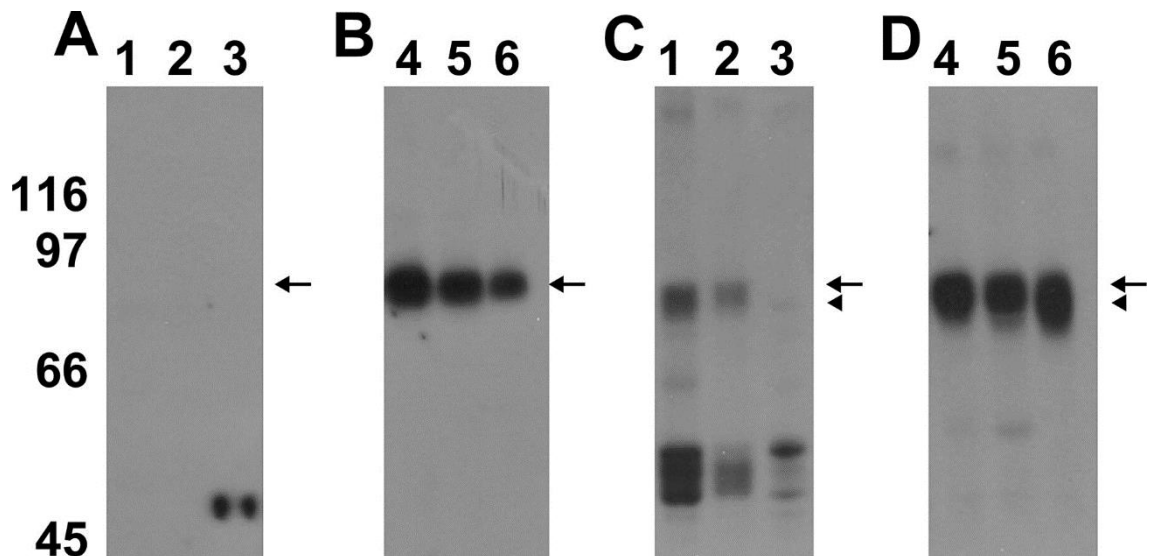


Figura 29 Detección por Western-blot de las dos isoformas de SPAM1 en el fluido epididimario. (1, 2 y 3) 20 μ g de las porciones de cabeza, cuerpo, y cola del epidídimo y espermatozoides bovinos (4, 5 y 6). Anticuerpo C-terminal (A y B) y el anticuerpo N-terminal (C y D). Las flechas indican la posición de 80 kDa, la posición de la isoforma de 70 kDa se indica mediante una punta de flecha. Tomado Morin et al., 2010.

2.3.4.- Funciones reproductivas de SPAM1

Se ha demostrado que SPAM1 juega un papel en por lo menos tres funciones importantes durante la fecundación, la primera es la dispersión del *cumulus oophorus* (Gmachl et al., 1993, Lin et al., 1994, Cherr et al., 2001, Yoon et al., 2014), otra actividad es la unión secundaria a la zona pelúcida después de la RA (Primakoff et al., 1985, Gmachl et al., 1993) y por último la señalización asociada a la exocitosis acrosómica vinculada al dominio del receptor HA (Cherr et al., 2001).

2.3.4.1.- Actividad hialuronidasa de SPAM1

La proteína SPAM1 marca una notable diferencia con respecto a las hialuronidasas comunes (a excepción de Hyal5); y es que SPAM1 se activa en un pH neutro y ácido, mientras que las otras hialuronidasas sólo pueden ser activas en un medio con pH ácido, (Cherr et al., 2001),

Estas actividades enzimáticas diferentes se atribuyen a la forma insoluble y soluble, respectivamente, de la proteína.

La actividad hialuronidasa ácida (forma soluble) de Spam1, con un dominio receptor HA, después de la RA, se pierde el extremo C-terminal para que así pueda participar en la penetración de la zona y el espacio perivitelino (Martin-DeLeon 2006). Se han identificado dos regiones de la molécula de macaco SPAM1 que son los sitios catalíticos responsables de la actividad de hialuronidasa uno de 142 ± 172 aa y otro 277 ± 297 aa; denominados péptidos 1 y péptidos 3, respectivamente (Yudin et al., 2001). Los primeros trabajos en el humano demostraron que la proteína SPAM1 (PH-20) tenía actividad hialuronidasa (Gmachl et al., 1993), así en el ratón se demostró que los espermatozoides incubados con anti-PH-20 perdió la capacidad de penetrar el *cumulus oophorus* (Lin et al., 1994).

En la especie bovina el dominio hialuronidasa de SPAM1 se expresa en la superficie de la región post-acrosomal de la cabeza de los espermatozoides, esto para facilitar su interacción con el HA presente en la *cumulus oophorus* que rodea el ovocito (Morin et al., 2010). Recientes investigaciones *in vitro* enfocadas para determinar la actividad hialuronidasa con proteína recombinante SPAM1 porcina, confirmaron la capacidad de esta para disgregar el cumulus oophorus. En este mismo trabajo se demostró que al anticuerpo policlonal anti-SPAM1 inhibe la interacción espermatozoide-ovocito en la fecundación *in vitro* (FIV) (Yoon et al., 2014).

2.3.4.2.- Capacidad de unión a ZP de SPAM1

La proteína SPAM1 en el espermatozoide que ha experimentado la RA tiene una actividad de unión a ZP (enlace secundario). Debido a la presencia de HA en la ZP, la adherencia espermatozoide-ZP parece depender de la de la hidrólisis de HA por SPAM1, actuando como una hialuronidasa (Hunnicuttt et al., 1996). El dominio de enlace ZP-vinculante, se encuentra en la parte C-terminal de SPAM1. Una vez el

espermatozoide reaccionado SPAM1 es alterada en dos formas principales: 1) el polipéptido (64-kDa) sufre una reacción proteolítica y se divide en dos polipéptidos (un fragmento de 41-kDa y uno de 27 kDa); y 2) las moléculas de SPAM1 migran de la membrana plasmática de la cabeza posterior del espermatozoide, hacia la membrana acrosomal interna, uniéndose a la otra población de moléculas de SPAM1 preexistentes la membrana acrosomal interna (Fig. 30). El enlace espermatozoide-ZP puede ser inhibido por ciertos bloqueos de función anti-SPAM1 por anticuerpos monoclonales y policlonales anti-SPAM1 (Hunnicutt et al., 1996).

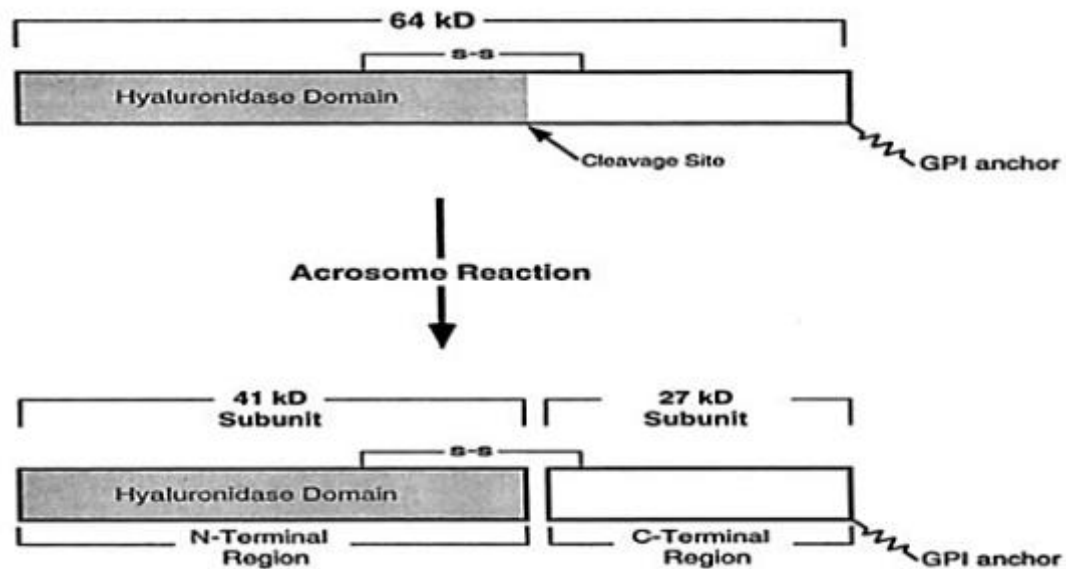


Figura 30 Esquema de la proteína SPAM1 de conejillo de indias antes y después de la RA. Arriba: SPAM1 intacto antes de la RA. Abajo SPAM1 tras la RA, fragmentación de polipéptidos (41-kDa y 27 kDa) se mantienen juntos por los puentes di-sulfuro. Tomado de Hunnicutt et al., 1996.

Estudios de delección de genes no han podido confirmar la importancia exclusiva de mediación de reconocimiento de espermatozoide-óvulo (Redgrove et al., 2012). Por lo tanto se asume que la importancia biológica de la unión espermatozoide ovulo es tan grande que ninguna sola molécula puede asumir la responsabilidad de mediar la unión a la ZP espermatozoide (Asquith et al., 2004, Nixon et al., 2007).

En el ratón se ha propuesto que el reconocimiento de espermatozoide-ovulo se lleva a cabo bajo un proceso mediado por el

montaje de un complejo de receptores de ZP, bajo la influencia de proteínas chaperonas. Un modelo descrito recientemente en humano implica la participación de la proteína chaperona HSPA2 y las proteínas ARSA y SPAM1 (Redgrove et al., 2012) formando un complejo, donde se sugieren que la HSPA2 mantiene orientada a SPAM1 en la superficie de los espermatozoides no capacitados y por lo tanto expuesta a la SPAM1 al exterior, mediando así, los mecanismos de unión y la dispersión de la matriz de HA en el *cumulus oophorus*. Una vez completada la capacitación el complejo se reorienta para exponer a la superficie a la ARSA (Redgrove et al., 2012, Redgrove et al., 2013) (Fig. 31), que se sabe participa en la mediación de unión a ZP (Rattanachaiyanont et al., 2001) y la dispersión del *cumulus oophorus* (Wu et al., 2007), características funcionales que comparte con la SPAM1.

2.3.4.3.- Actividad de señalización celular de SPAM1

El HA es un polisacárido del tipo de N-glucosaminoglicano y está altamente conservado en las matrices extracelulares (ECM) de los mamíferos. Se cree que la señalización celular inducida por HA puede estar involucrada en la locomoción celular, la angiogénesis, cicatrización de heridas y embriogénesis (Volpi et al., 2009). Numerosas investigaciones están ahora en curso para identificar las proteínas de superficie celular que interactúan con HA y regulan su actividad de transducción de señal.

El ovocito en mamíferos está rodeado de ECM que debe atravesar el espermatozoide antes de la fecundación. La matriz del *cumulus oophorus* rica en HA, cumple diferentes funciones, facilita la recogida y transporte en el oviducto del ovocito, excluye los patógenos potenciales, reduce el estrés mecánico, estimula la motilidad espermática, mejora la selección espermática, mejora la fecundación y promueve la supervivencia del embrión (Talbot 1985, Talbot et al., 1999, Talbot et al., 2003). Las interacción entre el HA y los componentes de superficie del espermatozoide durante la penetración del *cumulus oophorus* pueden tener efectos directos sobre las funciones del flagelo

del espermatozoide y el acrosoma, para maximizar la probabilidad de la fecundación (Vines et al., 2001).

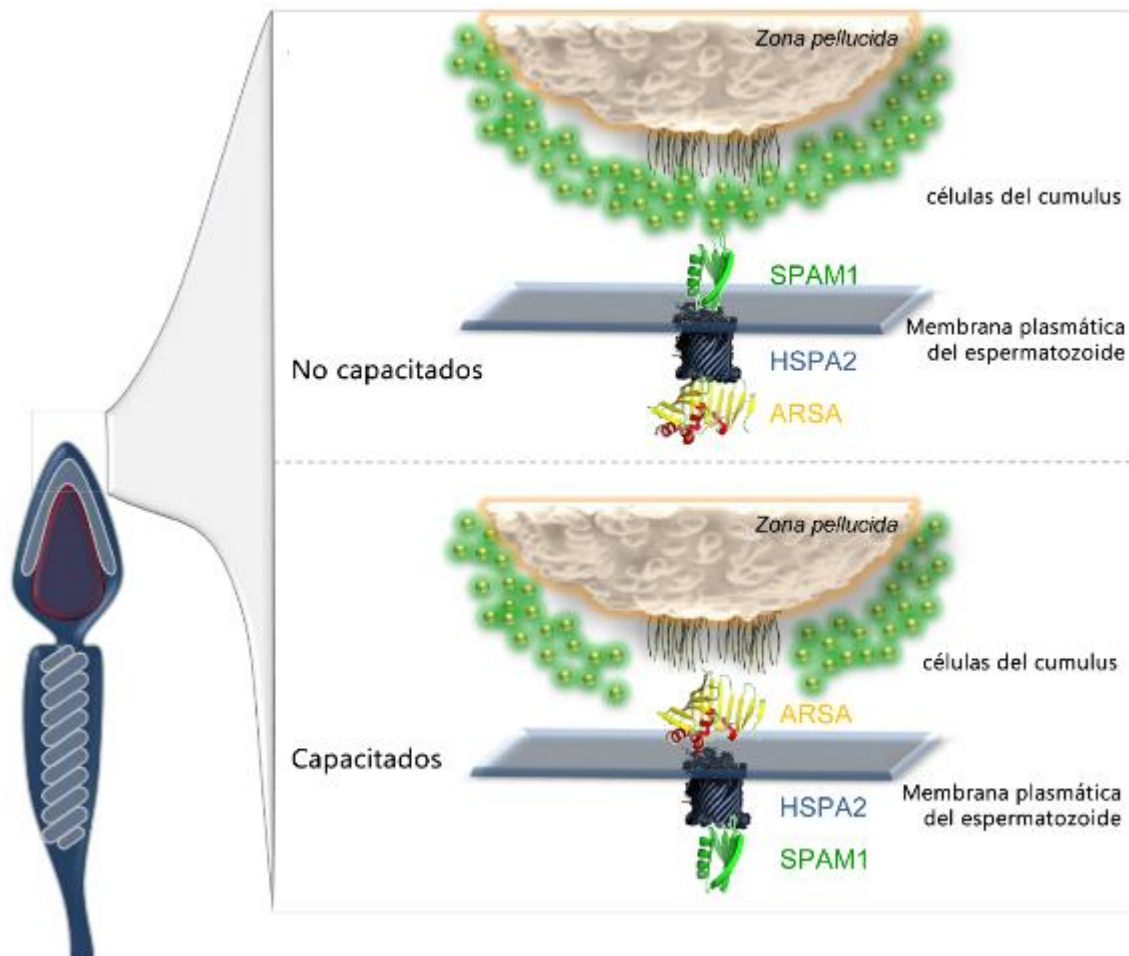


Figura 31 Modelo de expresión de HSPA2, SPAM1 y ARSA en la superficie de los espermatozoides humanos. Se propone que HSPA2 coordina la formación de un complejo receptor de ovocitos multimérica con SPAM1 y ARSA en los espermatozoides humanos. Este complejo está orientado de tal manera que la hialuronidasa, SPAM1, se expresa en la superficie de la mayoría de los espermatozoides no capacitados y por lo tanto se posiciona para mediar la unión y la dispersión de la masa del cumulus. Cuando los espermatozoides penetran el cumulus y completan su capacitación, el complejo receptor se reorienta; del tal forma que los espermatozoides expresan ahora que ARSA se expresa en la superficie expuesta como uno de los receptores putativos para la ZP. Este proceso implica la reorientación de la mediación de HSPA2. Modificado de Redgrove et al., 2013.

SPAM1 interactúa con el HA para aumentar el Ca^{2+} interno en el espermatozoide a través de GPI-ancla durante la penetración espermática en los cúmulos. Se ha propuesto que la unión de HA (incluido en el cumulus oophorus) y la superficie del espermatozoide, da como resultado la agregación de SPAM1, causando el evento de señalización para incrementar el Ca^{2+} intracelular. El aumento en Ca^{2+}

no es suficiente para desencadenar la RA, pero si facilita su inducción, después de la unión del espermatozoide a la ZP. SPAM1 contiene un dominio funcional para la actividad de señalización celular inducida por HA, (G3, 143–510 aa) en el cual se localiza la región del péptido 2 (aa 205-235), que actúa como un potente enlace entre SPAM1 y HA. El péptido 2 representa el sitio catalítico de la actividad de señalización de SPAM1 (Vines et al., 2001).

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1.- Objetivo general:

El objetivo general de esta Tesis Doctoral es identificar diferentes mecanismos moleculares presentes en el tracto genital femenino implicados en el proceso de maduración del espermatozoide tras la inseminación.

3.2.- Objetivos específicos:

.- Analizar las similitudes y diferencias de expresión del transcriptoma de estos tejidos mediante el uso de micromatrices con especial referencia a los transcritos implicados en la secreción.

.- Analizar las similitudes y diferencias existentes en el fluido oviductal y uterino mediante electroforesis bidimensional-DiGE y espectrometría de masas.

.- Análisis de SPAM1 en el oviducto de diferentes mamíferos con especial referencia a la especie bovina.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.- MATERIALES

4.1.1.- Anticuerpos

| Inmunógeno | Casa comercial | Referencia | Procedencia |
|--------------------------------------|--------------------------|------------|----------------------|
| SPAM1 | ATCC® | 203-7D10 | Manassas, EUA |
| Anti-OVGP1 | Abcam® | Ab118590 | Cambridge, GRB |
| Anti-Annexin I | SIGMA-ALDRICH | SAB2500072 | Madrid, España |
| Anti-AKR1B1 | Novus Biologicals | NBP1-53144 | Littleton, EUA |
| Donkey anti-goat Ig-HRP | Santa Cruz Biotechnology | sc-2020 | Heidelberg, Alemania |
| Goat anti-rabbit IgG-HRP | Santa Cruz Biotechnology | sc-2004 | Heidelberg, Alemania |
| Donkey anti-mouse IgG-HRP | Thermo Fisher | SA1100 | Rockford, EUA |
| Goat Anti-Mouse IgG Alexa Fluor® 488 | Molecular Probes® | A-11029 | Eugene, EUA |

4.1.2.- Hormonas

| Sustancia activa /concentración | Nombre comercial | Casa comercial | Procedencia |
|---------------------------------|------------------|-------------------|------------------|
| Cloprostenol 250µg/ml | Estrumate® | MSD Animal Health | Múnich, Alemania |
| Buserelina 0,004 mg/ml | Receptal® | MSD Animal Health | Múnich, Alemania |

4.1.3.- Reactivos y Kits

| Nombre | Nombre comercial | Referencia | Casa comercial | Procedencia |
|-------------------------------|------------------------------------|-------------|-------------------|------------------------|
| Albúmina sérica bovina | Bovine Serum Albumin | A2153 | SIGMA | Madrid, España |
| Agarosa | Agarose | A9539 | SIGMA | San Luis, EUA |
| Azul de coomassie | PageBlue Protein Staining Solution | 24620 | Thermo Scientific | Rockford, EUA |
| Azul de tripano | Trypan Blue | 145-0022 | Bio-Rad | Hercules, EUA |
| Bicarbonato de sodio | Sodium bicarbonate powder | S5761 | SIGMA | San Luis, EUA |
| Bromuro de etidio (BrEt) | Ethidium bromide solution | E1510 | SIGMA | San Luis, EUA |
| Cloroformo | Chloroform solution | 611778 | SIGMA | Madrid, España |
| Cóctel inhibidor de proteasas | cOmplete® | 11697498001 | Roche® | Mannheim, Alemania |
| Detergente Tween 20 | TWEEN® 20 | P1379 | SIGMA-ALDRICH | San Luis, EUA |
| Enzima PCR | Taq DNA Polymerase | EP0281 | Fermentas | San Leon-Rot, Alemania |
| Estreptomomicina | Streptomycin sulfate salt | S9137 | SIGMA | Madrid, España |

| | | | | |
|---|---|------------|--------------------|------------------------------|
| Etanol 99.8% | Ethanol for molecular biology | 1085430250 | Millipore | Darmstadt, Alemania |
| Formaldehído | Formaldehído 30-36% | 253572 | Panreac | Barcelona, España |
| Glutamina | L-Glutamine | G8540 | SIGMA | Madrid, España |
| Glutaraldehído | Glutaraldehyde 25 % solution in water | 23114 | Serva | Heidelberg, Alemania |
| Heparina | Anticuaagulante de Heparina | 7A00144 | Analema | |
| Hepes | HEPES $\geq 99.5\%$ | H4034 | SIGMA | Madrid, España |
| Isopropanol | 2-Propanol | I9516 | SIGMA | Madrid, España |
| Kit de aislamiento de exosomas | ExoQuick-TC™ | EXOQ20A-1 | System Biosciences | Mountain View, EUA |
| Kit de amplificación y marcado de un color | Agilent RNA Spike-In Kit, One Color | 5188-5282 | Agilent | Victoria, Australia |
| Kit de hibridación para expresión génica | Gene Expression Hybrid. Kit | 5188-5242 | Agilent | New Castle, EUA |
| Kit de etiquetado de muestras para microarray | Agilent Low-Input QuickAmp Labeling Kit | 5190-2331 | Agilent | Victoria, Australia |
| Kit de etiquetado mínimo Cydye DIGE Fluor | Amersham CyDye DIGE Fluor Minimal | 25-8010-65 | GE Healthcare | Buckinghamshire, Reino Unido |

| | | | | |
|-------------------------------------|--|------------|--------------------------|---------------------|
| | Labeling Kit (5 nmol) | | | |
| Kit de lavado de microarray | Agilent Gene Expression, Wash Buffer Kit | 5188-5327 | Agilent | New Castle, EUA |
| Kit de purificación de ADN | DNA Clean & Concentrator™-5 | D4003 | Zymo Research | Irvine, EUA |
| Kit de purificación de ARN | RNeasy Mini Kit | 74104 | Qiagen | Austin, EUA |
| kit de tampones crooslink | Protein A/G HP SpinTrap Buffer kit | 28-9135-67 | GE Healthcare | Uppsala, Suecia |
| Kit para cuantificación de proteína | Pierce™ BCA Protein Assay Reagent | 23225 | Pierce® | Rockford, EUA |
| Kit para la el aislamiento de ARN | RNAqueous® Total RNA Isolation Kit | AM1912 | Ambion® | Carlsbad, EUA |
| Kit para revelado de membranas | Pierce ECL Western-blotting Substrate | 32106 | Pierce® | Rockford, EUA |
| LR-White | L.R. White Embedding Media | 17411E | Polysciences Europe GmbH | Eppelheim, Alemania |
| Marcador de ADN | GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder | SM0241 | Thermo Fisher | Vilnius, Lituania |
| Marcador estándar de proteína | Precision Plus Protein™ | 161-0374 | Bio-Rad | Hercules, EUA |

| | | | | |
|---|-----------------------------------|------------|---------------------------------|-------------------------|
| Medio de montaje anhidro para microscopía | DPX | 1005790500 | Millipore | Darmstadt, Alemania |
| Medio de montaje de fluorescencia | Dako Fluorescence Mounting Medium | S3023 | Dako | Gostrup, Dinamarca |
| Paraplast | Leica-Paraplast PLUS | 39602004 | Leica Biosystems Richmond, Inc. | Richmond, EUA |
| Penicilina | Penicillin G sodium salt | P3032 | SIGMA | Madrid, España |
| Peróxido de hidrogeno | Hydrogen Peroxide 30% | 121076 | Panreac | Barcelona, España |
| Polivinil alcohol | Poly(vinyl alcohol) | P8136 | SIGMA-ALDRICH | San Luis, EUA |
| Proteína G | Protein G Mag Sepharose | 28-9440-08 | GE Healthcare | Uppsala, Suecia |
| Reactivo para el aislamiento de ARN | TRIzol® Reagent | 15596-018 | Ambion® | Karlsruhe, Alemania |
| Reversa transcriptasa | SuperScript® III | 18080-051 | Invitrogen™ | Karlsruhe, Alemania |
| Solución estabilizadora de ARN | RNAlater® Stabilization Solution | AM7020 | Ambion® | Huntington, Reino Unido |
| Triton | Triton™ X-100 | X100 | SIGMA-ALDRICH | San Luis, EUA |
| Xileno | Xileno, mezcla de isómeros | 161769 | Panreac | Barcelona, España |

4.1.4.- Tampones y soluciones

| Nombre | Nombre comercial | Referencia | Casa comercial | Procedencia |
|---|---|------------|----------------|----------------------|
| Agua para biología molecular | Water Molecular Biology Reagent | W4502 | SIGMA | San Luis, EUA |
| Agente reductor | NuPAGE® Sample Reducing Agent (10X) | NP0009 | Novex® | Paisley, Reino Unido |
| Medio de cultivo DMEM | Dulbecco's Modified Eagle's Medium | D5796 | SIGMA | San Luis, EUA |
| Medio 199 | Medium 199, With Hanks' salts and L-glutamine | M0393 | SIGMA | San Luis, EUA |
| Solución salina fosfatada (PBS) | Phosphate buffered saline | P5493 | SIGMA | Madrid, España |
| Solución salina fosfatada Dulbecco (DPBS) | Dulbecco's Phosphate Buffered Saline | D8662 | SIGMA | San Luis, EUA |
| Solución salina tamponada de Tris (TBS) | Tris Buffered Saline 10 ×, solution | T5912 | SIGMA | Madrid, España |
| Suero Fetal Bovino | Fetal Bovine Serum | 16000-044 | Gibco® | Carlsbad, EUA |

| | | | | |
|---|---|----------|----------|---------------|
| Tampón de carga para electroforesis SDS | SDS Sample Buffer (4X) | NP0007 | Novagen® | Madison, EUA |
| Tampón de recorrido | NuPAGE® Tris-Acetate SDS Running Buffer (20X) | LA0041 | Novex® | Carlsbad, EUA |
| Tampón de transferencia | NuPAGE® Transfer Buffer (20X) | NP0006-1 | Novex® | Carlsbad, EUA |
| Tampón Tris.Acetato, EDTA (TAE) | Tris Acetate-EDTA buffer (10×) | T8280-1L | SIGMA | San Luis, EUA |

4.1.5.- Varios

| Descripción | Nombre comercial | Casa comercial | Procedencia |
|--------------------------------|---|-------------------|------------------|
| Cámara de hibridación | Microarray hybridization chamber assemblies | Agilent | Santa Clara, EUA |
| Geles poliacrilamida | NuPAGE® Novex® 4-12% Bis-Tris | Novex® | Carlsbad, EUA |
| Kit de juntas de hibridación | Hybridization Gasket Slide Kit | Agilent | Santa Clara, EUA |
| Membrana de transferencia PVDF | Immobilon-P | Millipore | Billerica, EUA |
| Porta objetos para hibridación | Superfrost™ Microscope Slides | Thermo Scientific | Waltham, EUA |

| | | | |
|--|--------------------------------|-------------------|--------------------|
| Termobloque | AccuBlock™ | Labnet | Woodbridge, EUA |
| Tiras IPG pH 3-10 | ReadyStrip™ IPG Strips | Bio-Rad | Hercules, EUA |
| Tubos de colección de suero sanguíneo | Primavatte® Serum (Z) 10 ml | Kabe Labortechnik | Wiehl, Alemania |
| Tubos de colección de plasma sanguíneo | Primavatte® S EDTA 10 ml | Kabe Labortechnik | Wiehl, Alemania |

4.1.6.- Equipos

| Nombre | Modelo | Casa comercial |
|--------------------------------|---|------------------------------------|
| Bioanalizador | Agilent 2100 Bioanalyzer | Agilent Technologies, Waldbronn |
| Centrifuga | GS-15R | Beckman, Múnich |
| Cámara de conteo celular | Neubauer | VWR Internacional, Haasrode |
| Contador automático de células | TC20™ Automated Cell Counter | Bio-Rad, Hercules |
| Cromatógrafo líquido HPLC | Agilent 1100 Series HPLC Value System | Agilent Technologies, Waldbronn |
| Cubeta de electroforesis | XCell SureLock® Mini-Cell | Invitrogen™, Carlsbad |
| Escáner de alta definición | Image Scanner | Amersham |
| Escáner de micromatrices | Agilent G2565CA Microarray Scanner System | Agilent Technologies, |

| | | |
|---|---|--|
| Espectrofotómetro NanoDrop | ND-1000 | PEQLAB, Erlangen |
| Espectrómetro de masas | Agilent 1100 Series LC/MSD Ion Trap | Agilent Technologies, Alpharetta |
| Histoquinete | Shandon Citadel 1000 | Thermo Scientific |
| Homogeneizador de tejidos | DIAX 900 | ART Labortechnik, Mühlheim |
| Horno de hibridación | Herahybrid12 | Kendro, Langenselbold |
| Incubadora de cultivos celulares | Steri-Cult 3310 | Thermo Scientific, EUA |
| Liofilizador | ALPHA 1-2 / LD Plus | Martin Christ, Osterode am Harz |
| Microcentrífuga | 5417R | Eppendorf®, Hamburgo |
| Microcentrífuga | 5418R | Eppendorf®, Hamburgo |
| Microscopio confocal | LEICA TCS-SP2 | Leica Microsystems, Heidelberg |
| Microscopio electrónico de transmisión | PHILIPS TECNAI 12 | PHILIPS |
| Micrótomo de rotación | Microm HM 310 | MICROM International GmbH, Walldorf |
| Rack magnético | MagRack 6 | GE Healthcare, Uppsala |
| Sistema de isoelectroenfoque | PROTEAN® i12™ IEF Cell | |
| Termociclador | Mastercycler® personal thermal cyclor | Eppendorf®, Foster City |

| | | |
|-------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Termo mezclador | Thermomixer® | Eppendorf®, Hamburgo |
| Typhoon™ | Typhoon™ 9410 | GE Healthcare, Uppsala |
| Ultramicrotomo | Ultracut Reichert jung | |
| Visualizador de Fluorescencia UV | AlphaImager Mini System | ProteinSimple™, Santa Clara |

4.2.- MÉTODOS

4.2.1.- Animales

La mayor parte de los animales utilizados para la obtención de muestras objeto de esta tesis, procedieron del matadero de Orihuela (Alicante). Adicionalmente, se obtuvieron muestras de novillas compradas exclusivamente para la realización de la parte de micromatrices y electroforesis diferencial en gel (DiGE). En todos los casos los animales fueron sacrificados bajo la normativa europea de bienestar animal.

4.2.1.1.- Novillas

Seis novillas cíclicas *Bos taurus* raza Simmental Fleckvieh, de entre 15 a 18 meses de edad, fueron utilizadas para la obtención de muestras para la extracción de ARN y de los fluidos oviductales y uterinos, así como para los tejidos procedentes del oviducto y del útero. Las novillas fueron compradas a un ganadero local en el estado de Baviera (Alemania). Después de la compra, los animales fueron transportados a las instalaciones de la estación experimental de Veitshof de la Universidad Tecnológica de Múnich (TUM) ubicadas en el poblado de Freising en Alemania. Los animales tuvieron un período de adaptación de dos semanas antes del inicio de la sincronización. A las novillas se les practicó una exploración rectal y todas presentaron tractos

reproductivos normales sin ningún tipo de malformación, ni indicios de patologías reproductivas. A su vez, mediante la palpación ovárica, se reveló la presencia de cuerpos lúteos o folículos, confirmando que se encontraban ciclando.

4.2.1.2.- Sincronización del ciclo estral de novillas

La sincronización se inició con la aplicación de una inyección intramuscular (IM) de 500 μg de cloprostenol (Fig. 32), análogo de PGF_2 que estimula la regresión del cuerpo lúteo (día 0). Pasadas 48 horas (día 2) y tras la aplicación de estrumate vía IM, se inyectó IM 0,01 mg de buserelina, que es un análogo de GnRH, que estimula la síntesis de gonadotropinas desencadenando el crecimiento y desarrollo folicular. Doce horas después de la aplicación de buserelina, el celo se detectó a través de la observación de la conducta sexual (inquietud, bramado, tolerancia a la monta e intento de monta a otras novillas y la presencia de moco vaginal). Para determinar el estado folicular se realizó una exploración rectal (día 8), encontrando en todas las novillas la presencia de cuerpos lúteos. Una segunda dosis de 500 μg de cloprostenol fue inyectada IM a las novillas en el día 12. Los animales fueron sacrificados en la fase periovulatoria (día 15) en un matadero de investigación, bajo la normativa europea de bienestar animal.



Figura 32 Inyección de hormonas a novillas. Se realizó vía intramuscular en la región de la anca.

4.2.2.- Obtención de material biológico

4.2.2.1.- Suero y plasma sanguíneo bovino

Las muestras de sangre fueron tomadas a partir de sangre periférica por corte del pabellón auricular inmediatamente después del sacrificio. Para coleccionar las muestras, fueron utilizados tubos de colección de sangre primavette® suero y primavette® EDTA, estos para la obtención de suero y plasma sanguíneo respectivamente. Una vez en el laboratorio las muestras fueron centrifugadas a 2000g, por 10 minutos a 4°C en una centrifuga de Beckman, el sobrenadante fue colocado en tubos Eppendorf de 1,5 ml y centrifugadas a 13000g a 4°C por 10 minutos. Posteriormente, los sobrenadantes fueron colocados en nuevos viales y congelados a -80°C.

4.2.2.2.- Fluido oviductal bovino (FOB)

Inmediatamente después del sacrificio, los oviductos fueron retirados y disecados eliminando el mesosalpinx (Fig. 34A), con cuidado para no perforarlos. Después fueron lavados en PBS para retirar la sangre por la posible ruptura de los vasos sanguíneos. El fluido oviductal se colectó por medio de aspiración con micropipeta como anteriormente fue descrito (Carrasco et al., 2008a) (Fig. 33) para evitar en la medida de lo posible la proteólisis, el FOB se colocó en un tubo Eppendorf® de 1,5 ml que contenía 500 µl de inhibidor de proteasas que fue diluido a razón de una pastilla, en 50 ml de PBS, según lo recomendado por el fabricante. Posteriormente, se colocaron en hielo para transportarlos al laboratorio. Una vez en el laboratorio, para eliminar los detritus celulares los FOBs fueron centrifugados a 7000g, desechando el precipitado y colocando los sobrenadantes en tubos Eppendorf® de 1,5 ml, posteriormente se congelaron a -80°C hasta su procesamiento.



Figura 33 Extracción de fluido oviductal con micropipeta.

4.2.2.3.- Fluido uterino bovino (FUB)

Los cuernos uterinos fueron retirados con dos cortes transversales, el primero, 2 cm a partir de la unión útero-tubárica y el segundo a partir de la bifurcación uterina (Fig. 34B).



Figura 34 Disección de tracto genital de vaca. (A) Oviducto ipsilateral (B) Cuerno uterino ipsilateral.

El fluido uterino (FUB) se obtuvo mediante la técnica de "flushing", con una jeringuilla de 20 ml que contenía 10 ml de PBS con inhibidor de proteasas. El pivote de la jeringuilla se colocó en el orificio de la parte distal del cuerno uterino (región próxima al istmo de la trompa uterina), para aplicar el flujo en dirección distal a proximal. El

FUB fue colectado en vaso de precipitado estéril y posteriormente colocado en un tubo Falcon de 15 ml. Los FUBs fueron transportados en hielo y centrifugados a 7000g durante 10 minutos a 4°C en una centrífuga Beckman, el precipitado con el moco no fue utilizado en los experimentos, el sobrenadante se colocó en tubos nuevos y fueron congelados a -80°C hasta su procesamiento.

4.2.2.3.1 Extracción de proteínas de exosomas de fluido oviductal

Los exosomas fueron aislados de muestras de fluido oviductal con Exoquick™ (System Biosciences, Inc.), una solución de precipitación patentada y diseñada para aislar los exosomas de fluidos corporales. Se transfirieron 62,5 µl de fluido, que previamente se había centrifugado 10 min a 7500 rpm para eliminar restos celulares, a un tubo de microcentrífuga estéril de 1.5 ml más la misma cantidad de agua libre de nucleasas y se agregaron 31,5 µl del tampón del kit comercial (Exoquick™). Se realizó una homogenización suave para asegurar una mezcla adecuada del fluido y del tampón, luego se incubó a 4° C durante toda la noche. Después de la incubación, las muestras se centrifugaron a 1500 g durante 30 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante se retiró cuidadosamente, y el sedimento que contenía los exosomas se resuspendió en 100 µl de agua libre de nucleasas.

4.2.3.4.- Extracción de proteínas de espermatozoides bovinos

Los espermatozoides bovinos fueron empleados como control de la técnica puesto que se ha descrito previamente la presencia de la proteína SPAM1 en estos gametos (Lalancette et al., 2001). Los espermatozoides utilizados fueron obtenidos a partir de pajuelas comerciales de semen congelado bovino utilizadas para la inseminación artificial. Las pajuelas fueron descongeladas en baño a 37°C durante 1 minuto para la eliminación de los restos de medio de congelación y líquido seminal, los espermatozoides fueron lavados y centrifugados a 4°C, 3 veces con PBS Dulbecco (DPBS) a 800g durante 10 min en una microcentrífuga Eppendorf® 5418R. La concentración espermática fue calculada mediante el empleo de una cámara de recuento celular de

Neubauer. Para la extracción de las proteínas espermáticas, los espermatozoides (136x10⁶/ml) fueron incubados durante 30 minutos a 37°C en una solución de DPBS con 0,5% de Triton™ X-100 e inhibidor de proteasas (concentración). Una vez terminada la incubación, se obtuvieron dos fracciones (solubles y precipitadas) mediante centrifugación (14000g, 10 min a 4°C). El sobrenadante fue alicuotado y congelado a -80°C hasta su utilización.

4.2.3.5.- Extracción de proteínas de células epiteliales del oviducto bovino

Adicionalmente se extrajo la proteína de células epiteliales del oviducto bovino, estas células se obtuvieron a partir de raspados del epitelio oviductal con portaobjetos de cristal estéril en un ángulo de 45°. El resultado del raspado se incubó en una solución de DPBS con 0,5% de Triton™ X-100 e inhibidor de proteasas (concentración), una vez terminada la incubación, las muestras se centrifugaron a 14000g por 10 min a 4°C. El sobrenadante fue recolectado y congelado a -80°C hasta su utilización.

4.2.3.6.- Determinación de la concentración de proteínas

La concentración de proteína de las muestras se determinó utilizando el método colorimétrico del ácido bicinonínico-BCA™, siguiendo las recomendaciones del fabricante. La detección colorimétrica de las muestras se midió en el espectrofotómetro, a 562 nm de longitud de onda. Los resultados se analizaron en el software GraphPad Prism® versión 4.0. Se realizó una recta patrón de concentraciones conocidas de BSA.

4.2.2.7.- Muestras de tejido para biología molecular

Las muestras fueron obtenidas de diferente origen. Para la reacción en cadena de la polimerasa convencional (PCR), se obtuvieron de animales procedentes de matadero, para la obtención ARN para análisis mediante micromatrices en la especie bovina se obtuvieron de novillas sincronizadas. Las muestras procedentes de matadero fueron recogidas inmediatamente después del sacrificio, se colocaron en

criotubos se sumergieron en nitrógeno líquido para su congelación, luego se dejaron en nieve carbónica para su transporte hasta el laboratorio, una vez en el laboratorio se colocaron a -80°C hasta su procesamiento. Adicionalmente se obtuvieron muestras de oviducto humano, estas se obtuvieron mediante salpinguectomía bilateral en el transcurso de una histerectomía abdominal total con doble anexectomía por útero miomatoso de una paciente mujer de 49 años, en fase folicular, en la que al momento de la extracción de la muestra se visualizó un folículo pre-ovulatorio en ovario izquierdo. Una vez fuera del campo quirúrgico, la muestra fue transportada hasta el laboratorio donde se seccionó la zona ampular de la trompa contralateral del ovario izquierdo que fue la incluida en este estudio. Los procedimientos experimentales para el uso y recogida de las muestras de humanos fueron aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Reina Sofía de Murcia, España, de acuerdo a la Ley española 14/2006 relativa a las técnicas de reproducción humana asistida (TRA).

4.2.2.7.1 Muestras de oviducto y endometrio bovino

Las muestras de las novillas sincronizadas se obtuvieron una vez terminada la obtención de los fluidos. Los oviductos fueron cortados longitudinalmente para realizar el raspado epitelial, colocados en cajas de Petri fueron dispuestos con el epitelio hacia la parte superior, utilizando portaobjetos de cristal estériles se realizó el raspado epitelial en ángulo de 45° , el tejido obtenido fue colocado en Eppendorf® de 1,5 ml libres de enzimas degradadoras de ARN y ADN. Las muestras fueron tomadas y clasificadas de acuerdo a la región del oviducto de la que procedían (Fig. 35). Para el estudio de micromatrices, las muestras que fueron utilizadas se corresponden a las regiones de la ampolla y de la unión istmo-ampular.

Las muestras fueron colocadas en tubos Eppendorf® que contenían RNAlater®, posteriormente se colocaron en hielo para su traslado al laboratorio, se mantuvieron a 4°C durante toda la noche para

impregnarse de RNAlater® y después fueron congeladas a -80°C hasta su procesamiento.

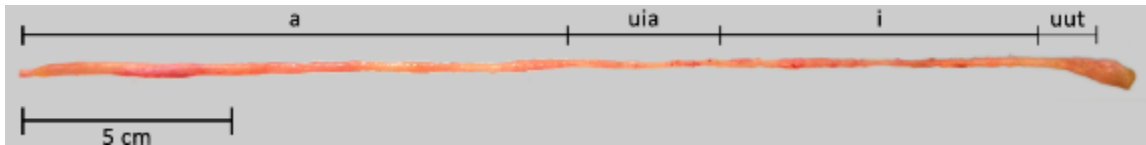


Figura 35 Imagen del oviducto bovino posterior a la disección donde se indican sus diferentes regiones. (a) ampolla, (uia) unión ístmo ampular, (i) ístmo y (uut) unión útero tubárica.

4.2.2.8.- Obtención de ovocitos bovinos ováricos

Los ovarios para la obtención de ovocitos procedieron de vacas de matadero. Estos fueron recogidos en tampón DPBS y transportados en hielo hasta el laboratorio. Una vez en el laboratorio, fueron lavados para eliminar los restos de sangre. Posteriormente se procedió a la extracción de los complejos *cumulus oophorus* de los folículos antrales (3-6 mm de diámetro), mediante aspiración con jeringa y aguja de 18 G. Los CCOs de las especies bovina, se seleccionaron en un medio de colección que consiste medio TCM-199 con sales de Hanks y L-Glutamina a pH 7,4 suplementado (Tabla 7).

Tabla 7 Tabla de complementos del medio de colección de ovocitos (TCM).

| Componente | Concentración |
|--------------------|---------------|
| Bicarbonato sódico | 4,20 mM |
| Hepes | 10,00 mM |
| Suero fetal bovino | 2,00 % (v/v) |
| Glutamina | 200,00 mM |
| Penicilina | 10 000 UI/ml |
| Estreptomicina | 10 000 UI/ml |
| Polivinilalcohol | 0,005 g/l |
| Heparina | 6 µl/ml |

4.2.3.- Análisis proteico

En esta tesis, pusimos especial énfasis en la detección de proteínas, contenidas en los fluidos reproductivos de la especie bovina, mediante diferentes técnicas de separación e identificación de proteínas. La selección de estas técnicas se basó en la especificidad y sensibilidad para identificar el contenido proteico de mezclas

complejas (FOB y FUB), así como su similitud y sus diferencias, la identificación de proteínas mayoritarias y el contenido proteico aportado por el suero sanguíneo como trasudado.

4.2.3.1.- Producción de anticuerpos

4.2.3.1.1.- Cultivo de hibridomas para la obtención de anticuerpo SPAM1

bovino

El anticuerpo anti-SPAM1 bovino fue obtenido por el cultivo de hibridomas de ratón (linfocitos B de mieloma) (203-7D10, ATCC®, Manassas, VA, USA). Este anticuerpo, dirigido contra los aminoácidos 2-17 de p60 v-src, se demostró que reconoce específicamente a SPAM1 en el espermatozoide bovino (Lalancette et al., 2001). Las células una vez descongeladas fueron resuspendidas en medio de Dulbecco modificado de Eagle (DMEM) adicionado con 10% de suero Fetal Bovino (SFB) cultivándose en una incubadora de cultivos celulares a 37°C con una presión de CO₂ del 7-10%. Se determinó la viabilidad tiñiendo las células con azul de tripano, el conteo celular se realizó con un contador automático.

Las células fueron incubadas por varios días, el medio de cultivo fue cambiado cada 24 horas, el sobrenadante para la obtención del anticuerpo se colectó cuando se alcanzó una densidad de 2×10^6 de células viables. El medio que contenía el anticuerpo monoclonal anti-SPAM1 fue alicuotado en criotubos de 1,8 ml y congelado a -80°C. Los criotubos fueron colocados en un liofilizador para concentrar el anticuerpo siguiendo las instrucciones del fabricante. El producto del liofilizado fue conservado a -80°C hasta su utilización. Antes de ser utilizado el anticuerpo fue resuspendido en 180 µl de agua libre de proteasas. La concentración de trabajo fue de una dilución de 1:10.

4.2.3.2.- Inmunohistoquímica para microscopía óptica (MO)

4.2.3.2.1.- Fijación de muestras

Las muestras de tejido para inmunohistoquímica fueron recolectadas después de haber tomado las muestras para biología molecular. Los tejidos tubulares para MO fueron abiertos longitudinalmente y cortados en trozos pequeños e introducidos en PBS con 4% formaldehído, se mantuvieron a RT toda la noche, después fueron colocadas en PBS a 4°C hasta su posterior procesamiento.

4.2.3.2.2.- Inclusión de tejidos en bloques de paraplast

La inclusión de los tejidos se realizó de manera automática en un histocineta, los tejidos fueron deshidratados gradualmente con etanol desde un 50% hasta llegar al 100%, el medio de aclaramiento de los tejidos se llevó a cabo en tolueno, finalmente la inclusión se hizo en paraplast plus (Sigma). Los tejidos fueron montados en moldes para formar los bloques, una vez secos los bloques fueron cortados (5 μm) en micrótopo de rotación y montados en portaobjetos de cristal tratados con una solución de poly-L-lisina.

4.2.3.2.3.- Inmunohistoquímica en portaobjetos

Los portaobjetos que contenían los cortes fueron desparafinados en xilol y rehidratados en soluciones decrecientes de alcoholes. Para el bloqueo de la peroxidasa endógena, los portaobjetos fueron embebidos en una solución de PBS y 1% de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) durante 30 minutos, después de 3 lavados con PBS, los portaobjetos fueron incubados con los anticuerpos primarios (anticuerpos primarios y secundarios diluidos en PBS y 1 % de BSA). La incubación se realizó en cámara húmeda a RT durante 1 hora. Después se lavaron tres veces con PBS y se procedió a la incubación con anticuerpos secundarios HRP con las mismas condiciones de la incubación primaria. Después de tres lavados con PBS se procedió al revelado utilizando como sustrato 3,3'-diaminobencidina (DAB) que al oxidarse por la hidrólisis del agua oxigenada añadida al tampón forma

un producto marrón insoluble. El contraste se realizó con hematoxilina y se montaron con un medio de montaje anhidro (DPX) para su posterior visualización. La visualización fue realizada en microscopio óptico con cámara digital acoplada y las imágenes extraídas con el software de imagen. Los controles utilizados para esta técnica fueron la incubación de portaobjetos en medio de incubación sin anticuerpo primario y posteriormente la incubación con el anticuerpo secundario.

4.2.3.3.- Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

4.2.3.3.1.- Fijación

La fijación de las muestras para la realización de técnicas inmunocitoquímicas a nivel ultraestructural usando el TEM se realizó 0,5% de glutaraldehído diluido en PBS durante 2 horas a 4°C y se lavaron en PBS, posteriormente se mantuvieron a 4°C en PBS hasta su posterior procesamiento.

Adicionalmente se colectaron muestras para realizar un estudio de TEM convencional para un análisis morfológico. Para ello, las muestras fueron fijadas en PBS y 2,5% glutaraldehído por 2 horas a 4°C, después fueron postfijados con 1% de tetraóxido de osmio en tampón PBS durante 1 hora a RT.

4.2.3.3.2.- Inclusión de tejidos en LR-White

Los tejidos fijados para TEM fueron incluidos en LR-White que es una resina que una vez polarizada es hidrófila, por lo tanto, los reactivos de inmunocitoquímica penetran fácilmente en los tejidos incluidos. Los tejidos fueron deshidratados en soluciones graduales de etanol (50-70%) y embebidos en LR-White en condiciones de oscuridad y agitación. Las muestras fueron montadas en capsulas que contenían LR-White y polimerizadas a 50°C en estufa durante 24 horas. Los cortes ultrafinos (50 nm) fueron realizados en un ultramicrotomo (REICHERT) y montados en rejillas de níquel recubiertas con Formvar.

4.2.3.3.- Inmunocitoquímica en rejillas

Esta técnica fue realizada mediante la incubación de las rejillas en gotas por flotación. Que consiste en la colocación de gotas de incubación (15-20 μ l) y lavados sobre un parafilm sobre superficie plana y la colocación de las rejillas sobre dichas gotas. El primer paso fueron 2 lavados en PBS seguido del bloqueo de uniones inespecíficas mediante la incubación en PBS y 1% de BSA durante 1 hora. Posteriormente se realizó la incubación con los anticuerpos primarios diluidos en PBS y 1% de BSA durante 1 hora. Se hicieron tres lavados con PBS antes de la incubación con los anticuerpos secundarios (ver tabla de materiales), dicha incubación también fue de 1 hora, al terminar la incubación, se lavaron nuevamente y se procedió a la incubación de 1 hora con proteína A conjugada con partículas de oro de 15 nm de diámetro. Tras los lavados con PBS, las rejillas se lavaron con agua bidestilada y se dejaron secar en papel filtro.

Previa a su visualización al TEM, las rejillas fueron contrastadas mediante la incubación de 7 min de las rejillas en una solución de 2% de acetato de uranilo, tras el lavado con agua bidestilada corriente y secado en papel filtro, las rejillas fueron incubadas por 1 minuto en citrato de plomo. Posteriormente, las rejillas fueron lavadas con agua bidestilada y secadas en papel filtro antes de ser observadas en el microscopio electrónico PHILIPS TECNAI 12.

4.2.3.4.- Inmunoprecipitación de proteínas

La inmunoprecipitación de proteínas en este estudio se realizó con la finalidad de precipitar proteínas minoritarias a partir de mezclas complejas como el FOB. La técnica que elegimos fue el uso de perlas magnéticas recubiertas de proteína G separosa, la cual tiene alta afinidad para anticuerpos monoclonales o policlonales. Los anticuerpos inmovilizados en las esferas magnéticas capturan por afinidad a las proteínas diana contenidas en el FOB (inmunoprecipitación). El protocolo de nuestra elección fue el llamado "Crosslink", este protocolo se caracteriza por mantener la unión covalente del anticuerpo a la

perlas magnéticas después del eluido, permitiendo con ello sólo la elución de las proteínas inmunoprecipitadas (Fig. 36).

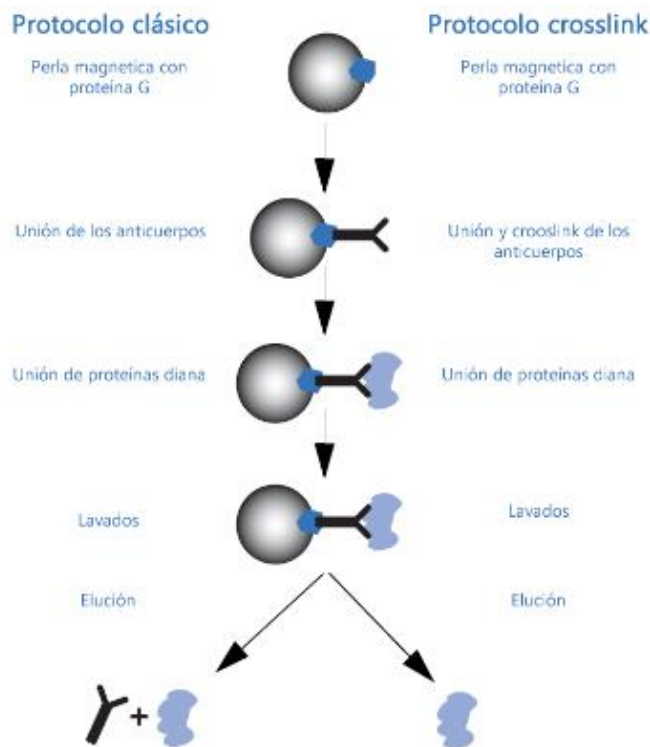


Figura 36 Representación esquemática del protocolo de inmunoprecipitación. Modificado del manual de instrucciones 28-9537-63 AA GE Healthcare.

Para la realización de esta técnica se eligieron las perlas de proteína G separosa y el kit de tampones para el protocolo crosslink (GE Healthcare), así como un rack magnético, que inmoviliza las perlas y permite la colección de las soluciones utilizadas en este protocolo. La técnica de inmunoprecipitación se inicia con la dilución de los anticuerpos (5 μ l) en 495 μ l de solución de unión TBS (50 mM Tris 150 mM NaCl pH 7,5 y 2M de urea). Las perlas magnéticas contenidas en un medio de conservación, son lavadas con el medio de unión TBS que a su vez equilibra el pH, los viales que contienen las perlas son colocados en el rack magnético, para eliminar el medio de lavado, inmediatamente después se coloca el medio de unión que contiene el anticuerpo, se incuba 1 hora a RT en agitación suave. El sobrenadante es eliminado y se procede al lavado.

Para el crosslink del anticuerpo, las perlas son lavadas con la solución crosslink A (200 mM trietanolamina, pH 8,9) del kit de tampones. Posteriormente, las perlas son incubadas con la misma solución adicionada con dimetil-pipelimidato (DMP) a una concentración final de 50 mM y se incubaron 1 hora a RT en agitación suave. Se retiró el medio y para realizar el bloqueo que evita las posteriores uniones inespecíficas, las perlas fueron incubadas con la solución de crooslink B (100 mM etanolamina, pH 8,9) 15 min a RT. Se retiró el medio y se añadió el medio de eluido (0.1 M Glycine-HCl, 2 M urea, pH 2,9) para retirar el anticuerpo no acoplado. Se lavaron las perlas con solución de unión (x2).

Aproximadamente 500 µg de proteína total contenido en el FOB (aproximadamente 12,5 µl de fluido) fue diluido en solución de unión (475,5 µl). Las perlas son incubadas con el FOB diluido a 4°C en agitación suave durante toda la noche. La porción no unida es recolectada y congelada (en principio no es relevante puesto que no es lo que vas a estudiar, luego vemos si lo quitamos). Las perlas son incubadas con el FOB diluido a 4°C en agitación suave durante toda la noche, la porción no unida es recolectada y congelada. Las perlas fueron lavadas con solución de unión (x3), posteriormente fueron incubadas en solución de eluido (50 µl) sin urea, se incubaron durante 2 minutos y se colectaron en el medio de elución, adicionado con un medio de amortiguación (1M tris-HCl pH 9.0) para ajustar el pH a 7.

También se realizaron algunas pruebas con el protocolo clásico de inmunoprecipitación que consiste básicamente en el mismo protocolo de crosslink omitiendo los pasos de fijación del anticuerpo, con este protocolo eluimos a la vez el anticuerpo acoplado a las perlas magnéticas y las proteínas inmunoprecipitadas. La proteína inmunoprecipitada de ambos protocolos fue congelada a -80°C hasta su posterior uso.

4.2.3.6.- Determinación de la unión de SPAM1 oviductal a ZP de ovocitos bovinos

Los ovocitos ($n=19$) fueron incubados 1 hora con la proteína SPAM1 inmunoprecipitada de FOB, a una concentración de 100 $\mu\text{g/ml}$. Los ovocitos fueron lavados 3 veces con PBS antes de ser fijados en una solución PBS al 4% de formalina por 10 minutos. Los anticuerpos fueron diluidos con PBS y 1% BSA. Los ovocitos se incubaron con el anticuerpo monoclonal anti-SPAM1 a una dilución de 1:10 en tampón PBS-1% BSA durante 1 hora a RT, posteriormente se lavaron con PBS de 5 minutos (3x) y se incubaron con un anticuerpo secundario policlonal anti-IgG de ratón producido en cabra conjugado con fluorescencia (FITC) durante una hora a RT y en oscuridad. Tras lavar en PBS, se montaron con medio de fluorescencia (Dako, Glostrup, Dinamarca) y guardados en oscuridad hasta su observación al microscopio confocal (LEICA TCS-SP2).

4.2.3.7.- Análisis por electroforesis

4.2.3.7.1.- Electroforesis

Las concentraciones de proteína fueron cuantificadas utilizando el método colorimétrico del ácido bicinonínico-BCATM siguiendo las instrucciones del fabricante. Las electroforesis se realizaron con el sistema NuPAGE® SDS-PAGE, los geles utilizados fueron los de 4-12% de poliacrilamida Bis-Tris de 1 mm. La cantidad de fluidos oviductales y uterinos que se cargó en cada calle fue aproximadamente de 10-15 μg de proteína. Las muestras fueron preparadas en tampón de carga y en condiciones reductoras, posteriormente fueron colocadas en termobloque a 95°C por 5 min para su desnaturalización y después fueron centrifugadas. En la cubeta de electroforesis se colocaron los geles y el tampón de recorrido y las muestras fueron cargadas en los geles junto a un marcador de proteínas estándar. Las condiciones de las electroforesis fueron las siguientes 200 V durante 50 minutos, en este punto algunos de los geles fueron utilizados para la identificación de proteínas, por lo tanto no se transfirieron, sino fueron teñidos con azul

de coomassie para su posterior recorte e identificación por espectrómetro de masas.

4.2.3.7.2.- Western-blot

La transferencia de proteínas a membrana de fluoruro de polivinilideno (PVDF) se realizó en un sistema de transferencia de tipo húmedo siguiendo las instrucciones del fabricante. Las membranas fueron activadas por 30 segundos en metanol, lavadas en agua y mantenidas durante 5 minutos en tampón de transferencia. Las condiciones de transferencia fueron de 30 V durante 1 hora. Posteriormente, las membranas fueron bloqueadas en una solución salina tamponada de Tris con 0,05% de tween 20 (TBST) conteniendo 1% de albúmina sérica bovina (BSA) durante 1 hora a RT.

4.2.3.7.3.- Inmunodetección en membrana

Los anticuerpos primarios y secundarios utilizados para las inmunodetecciones fueron comerciales (ver tabla en apartado de materiales), a excepción del anticuerpo anti-SPAM1 bovino que fue obtenido a través del cultivo de hibridomas.

Todos los anticuerpos fueron diluidos en TBST con 1% BSA, la incubación con los anticuerpos primarios se incubaron toda la noche a 4°C en movimiento, después se procedió a 3 lavados con TBST antes de la incubación de los anticuerpos secundarios correspondientes, esta incubación se realizó a RT durante una hora y en movimiento. La visualización de las bandas se realizó mediante la incubación de la membrana con ECL plus y los revelados se hicieron con el equipo Typhoon™, siguiendo las instrucciones del fabricante. Las imágenes fueron obtenidas con el software ImageQuant™.

4.2.3.7.4.- Electroforesis bidimensional (2D-PAGE) y Electroforesis

bidimensional diferencial en gel (DiGE)

La electroforesis 2D-PAGE es una técnica de alta resolución, que tiene como objetivo la separación de proteínas en mezclas complejas

en base al peso molecular de la proteína y a su punto isoeléctrico (Fig. 37).

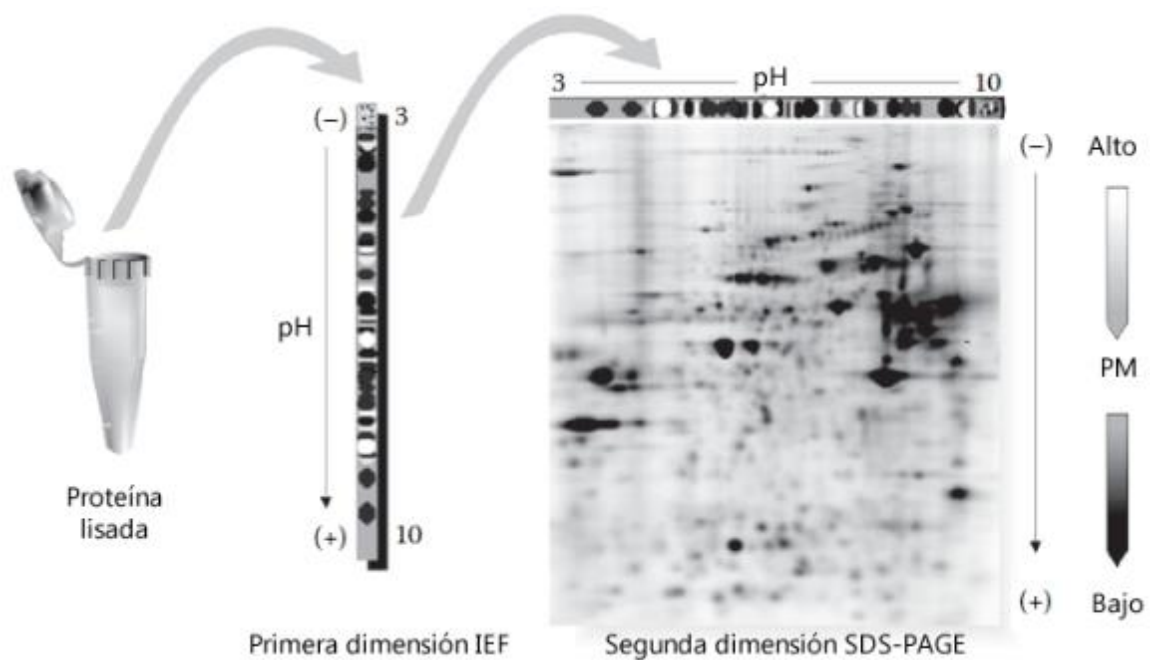


Figura 37 Representación esquemática del protocolo de electroforesis en dos dimensiones 2D-PAGE. Modificado de Díez et al., 2010.

La primera dimensión es cuando las proteínas son separadas de acuerdo a su punto isoeléctrico o isoelectroenfoco (IEF). Las proteínas son separadas en unas tiras con gradiente de pH (ReadyStrip™ IPG, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) en condiciones desnaturizantes. Las tiras (17 cm) que se usaron tienen un gradiente no lineal de pH 3 a 10. La cantidad de proteína utilizada para cada uno de los análisis fue de 100 μg por muestra y otros 100 μg de una mezcla de ambas muestras. Las muestras fueron preparadas en una solución de 8 M de urea, 2% CHAPS, 50 mM ditiotretitol (DTT), 0.2% anfolitos, y azul de bromofenol. Las tiras fueron hidratadas en esta solución durante toda la noche cubiertas con aceite mineral para evitar la evaporación. El IEF se realizó en un equipo Protean®, las condiciones de recorrido fueron como se describen a continuación: 250 V por 20 min, 10000 V por 2,5 horas, y por último 10000 V por 5,5 horas no superando los 40000 V/hora.

La segunda dimensión es la separación de las proteínas de acuerdo con su masa molecular por electroforesis discontinua en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico (SDS). Las tiras fueron equilibradas por 15 min en una solución 6M de urea, 2% SDS, 0.375 M Tris-HCl (pH 8,8), 20% glicerol, y 2% DTT, un segundo equilibrio se realizó en las mismas condiciones sin DTT. Para la segunda dimensión se utilizó un maxigel (18,3 x 19,3) al 12%, las tiras se colocaron en los geles y se ensamblaron en un equipo Protean II XL. Las condiciones de recorrido fueron las siguientes 16 mA/gel durante 30 minutos, a continuación, 24 mA/gel durante 5.5 horas.

Para visualizar las proteínas, los geles fueron teñidos con azul de coomassie listo para su uso (SimplyBlue™ SafeStain, Life Technologies™, Carlsbad, CA, USA) 1 hora a temperatura ambiente en agitación. El lavado se hizo en agua destilada, por 2 horas a temperatura ambiente y en agitación. Para la adquisición de las imágenes, los geles fueron escaneados en escáner de alta definición (Image scanner II Amersham Biosciences), la extracción de la imagen se hizo mediante el software ImageMaster 2D Platinum 7.0.

Adicionalmente, algunas de las muestras de fluido oviductal y uterino se marcaron con sonda fluorescente (CyDyes 2) para determinar si había diferencia entre estas y las teñidas con coomassie. Estos geles fueron escaneados en el equipo Thyphoon (GE Healthcare). Las imágenes también fueron analizadas con el software ImageMaster 2D Platinum 7.0. Para determinar el volumen (%) que representan en el total del gel y así calcular las más abundantes. Una vez seleccionados las diferentes "spots" se recortaron y fueron procesadas para su posterior identificación mediante análisis proteómico.

Para la electroforesis diferencial las muestras de proteína son marcadas antes del IEF, se utilizan sondas fluorescentes (CyDyes 2, 3 y 5). Los CyDyes son fluoróforos de cianina que llevan un grupo reactivo éster de N-hidroxisuccinimidilo que se une covalentemente a los

grupos- ϵ -amino de residuos de lisina en las proteínas. El aspecto importante de la tecnología DiGE es su capacidad para marcar dos o más muestras con diferentes fluoróforos y separarlos en el mismo gel, eliminando la variabilidad de gel a gel (Fig. 38) (Diez et al., 2010).

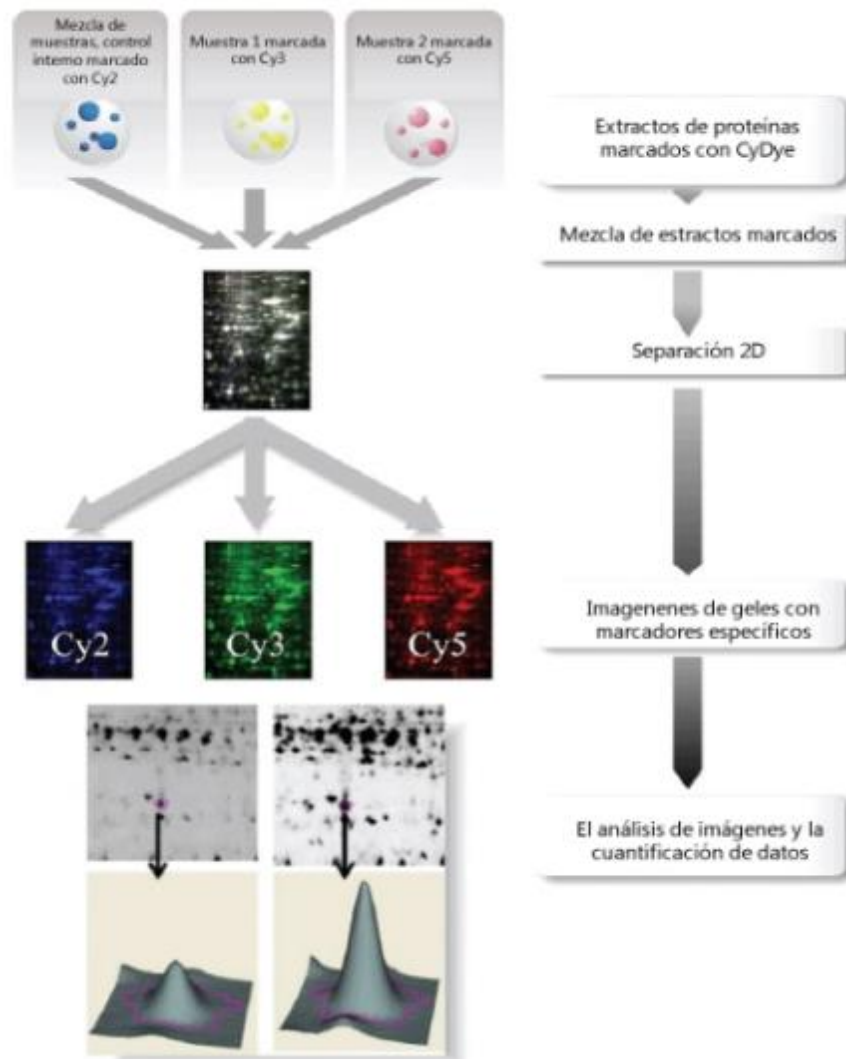


Figura 38 Representación esquemática del protocolo de electroforesis diferencial DiGE. Modificado de Diez et al., 2010.

En nuestra investigación trabajamos con tres tipos de muestras, FOB ($n=6$), FUB ($n=6$), y suero sanguíneo bovino (SSB) ($n=6$). Las muestras fueron agrupadas en dos por cada tipo, para hacer tres replicados por gel. En todos los casos el FOB bovino fue marcado con Cy3 y el marcador Cy5 se usó alternativamente para marcar FUB o SSB. (Tabla 8).

Tabla 8 Marcaje de muestras con sondas fluorescentes y diseño de geles DiGE.

| Gel tipo | Cy2 | Cy3 | Cy5 | Proteína total | (n=) |
|----------|-----------|--------|--------|----------------|------|
| 1 | 50 µg FOB | 100 µg | 100 µg | 300 µg | 3 |
| | 50 µg FUB | FOB | FUB | | |
| 2 | 50 µg FOB | 100 µg | 100 µg | 300 µg | 3 |
| | 50 µg SSB | FOB | SSB | | |
| 3 | 50 µg FUB | 100 µg | 100 µg | 300 µg | 3 |
| | 50 µg SSB | FUB | SSB | | |

Como se recomienda el marcador Cy2 es utilizado para marcar la mezcla de las muestras. La cantidad de proteína marca fue de 100 µg para cada uno de los marcadores. Para Cy2 se utilizó 50 y 50 µg de cada en cada experimento. Los marcadores fueron resuspendidos en una solución de dimetilformamida (DMF) quedando como solución de trabajo al 0,04 mM para el marcaje de las muestras. La cantidad de marcador para cada muestra fue de 400 pmol por cada 100 µg de proteína, de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Una vez marcadas, las muestras fueron mezcladas con una cantidad igual de solución de rehidratación (7 M de urea, 2% CHAPS, 50 mM ditiotreitilo (DTT), 0.2% anfolitos). A partir de este punto se procedió de la misma manera que la electroforesis en 2D-PAGE, mantenido en condiciones de escasa luz para evitar la pérdida de fluorescencia de los marcadores.

El escaneo del gel se realizó en un equipo Typhoon™, para las diferentes sondas de marcaje se utilizaron diferentes ondas de excitación y de emisión. Para Cy2 480 nm y 520 nm, Cy3 532 nm y 580 nm y para Cy5 633 nm y 670 nm. La adquisición de la imagen se hizo con el software ImageQuant™. Una vez adquirida la imagen los geles fueron teñidos con tinción azul de coomassie para la detección de "spots" y posterior recorte para su identificación por MS/MS.

4.2.3.8- Análisis proteómico

4.2.3.8.1.- Análisis por proteómica de fluidos oviductales y uterinos bovinos

La identificación de proteínas se hizo a partir de muestras de diferentes fuentes. La principal fuente fueron los "spots" identificados con tinción de coomassie, a partir de geles DiGE y 2D-SDS, otra fuente fueron las bandas identificadas con tinción de coomassie en geles SDS-PAGE de una dimensión. Por último se identificaron proteínas de exosomas aislados de FOB, proporcionadas por una colaboración con el Laboratorio Andaluz de Reprogramación Celular (LARCEL).

Las muestras que procedían de geles fueron desteñidas para eliminar los restos de tinción de coomassie. Las muestras fueron tratadas para la reducción de puentes disulfuro (tampón bicarbonato amónico 25 mM de pH 8,5 con 25 mM DTT) y después tratadas en un medio con iodoacetamida (tampón bicarbonato amónico 25 mM de pH 8,5 con 55 mM iodoacetamida) que es una sustancia que alquila los átomos de azufre para impedir la renaturalización de las proteínas. Las muestras posteriormente fueron incubadas en un medio con tripsina y un potenciador de la actividad proteolítica, durante 10 min a RT (tampón bicarbonato amónico 25 mM, pH 8,5 con ProteaseMax Surfactant 0,01% y 2% de tripsina). La digestión se hizo a 37°C durante tres horas y una vez terminada, la actividad enzimática se detuvo en una solución con 0,5% de trifluoroacético (TFA) y las muestras se lavaron en un medio con 50% de acetonitrilo y 0,5% de TFA.

La separación de las muestras tripsinizadas y análisis de las digestiones se realizaron mediante cromatografía líquida HPLC de alta resolución. Este equipo dispone de un accesorio para cromatografía capilar, inyector automático termostatzado, detector tipo DAD y compartimento termostatzado para las columnas, además, está conectado a un espectrómetro de masas tipo trampa de iones Trap XCT Plus a través de una interface tipo electrospray (ESI).

Los datos fueron analizados mediante el software LC/MSD Trap Data Analysis Versión 3.3, para su búsqueda y comparación de los péptidos identificados se utilizó el software Spectrum Mill. Esta comparativa se hizo utilizando las bases de datos de NCBI. El criterio de selección y descarte de los péptidos identificados está dado por dos puntajes que otorga el software Spectrum Mill, el primero es básicamente la intensidad y precisión de la señal (score) y el segundo tiene que ver con el porcentaje de señales detectadas experimentalmente de cada fragmento respecto al número de señales teóricas que debería producir (SPI). Los péptidos considerados como aceptables son los que poseen un score mayor a 7,0 y un SPI superior a 70%.

4.2.3.8.2.- Análisis funcional de datos de proteómica

Una vez identificadas las proteínas por MS/MS de los diferentes "spots", se procedió a clasificarlas. Para determinar las redes de interacción de las proteínas se utilizó la herramienta bioinformática STRING 9.1. Para estas redes la clasificación que se utilizó fue la de evidencias, esto significa que sólo se presentaron las interacciones de las cuales se tiene referencias de artículos publicados. La especie para estas redes siempre fue la bovina. Otra herramienta bioinformática para agrupar las proteínas por funcionalidad o *Gene Ontology* (GO) fue el DAVID, con esta herramienta se elaboraron las tablas de funcionalidad.

4.2.4.- Análisis molecular

4.2.4.1.- Aislamiento y análisis de ARN

La extracción de ARN de muestras para PCR se realizó mediante la utilización del kit RNAqueous®. El aislamiento de ARN se consiguió siguiendo las indicaciones del fabricante. Para ello, lisamos los tejidos en la solución de lisis en una proporción de 10 µl de solución por 1 mg de muestra. La elución final se realiza con agua para biología molecular libre de RNasas. El eluido se congeló a -80°C hasta su procesamiento.

El método de Trizol® fue utilizado para el aislamiento de ARN para las técnicas de micromatrices. El aislamiento se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante con pequeñas variaciones en los tiempos de centrifugación.

Las muestras contenidas en RNAlater® fueron descongeladas y secadas para eliminar los restos del reactivo. Una vez secas se colocaron los tejidos en el Trizol® en una proporción de 50 mg/ml de reactivo. La homogenización se realizó con el equipo modelo DIAX 900. Para la fase de separación, a las muestras homogenizadas se les agregó cloroformo (200 µl por cada 1 ml de Trizol®) se mezcló por 15 segundos y después de 5 min a RT las muestras fueron centrifugadas a 12000g por 15 min a 4°C en una microcentrífuga Eppendorf® 5417R. Las fases acuosas e incoloras que contienen el ARN fueron colocadas en viales nuevos. Para la fase de precipitación se les agregó a los viales alcohol isopropílico (isopropanol) 500 µl/ml de Trizol® se mezclaron en agitador y después de 10 min a RT, las muestras fueron centrifugadas a 25000g durante 45 min a 4°C en una microcentrífuga Eppendorf® 5417R, con cuidado de no perder los precipitados, el sobrenadante fue retirado y se procedió a lavar en dos ocasiones con etanol al 75%. La elución final se hizo en un volumen de 60 µl en agua para biología molecular. La incubación final se hizo a 37°C durante 20 minutos en un termo mezclador. La determinación de la pureza de ARN se midió con un espectrofotómetro (NanoDrop, SACE, UMU).

Con las muestras de ARN para el estudio de micromatrices se procedió de la siguiente manera: Para determinar si no hubo contaminación por ADN, se hicieron electroforesis en geles de agarosa al 1%, los fragmentos se visualizaron incubando los geles en bromuro de etidio y fueron observados en el sistema de fluorescencia UV, la imagen se obtuvo por medio del software AlphaSnap™.

La integridad del ARN se evaluó mediante análisis con chips de micro fluidos Agilent® RNA Nano 6000 en un Bioanalizador Agilent

2100. Los números de integridad de ARN (RIN) para las muestras utilizadas en este estudio fueron superiores a 7,9.

4.2.4.2.- Síntesis de ADN complementario para PCR

La síntesis *in vitro* de ADN complementario (ADNc) se realizó con el kit SuperScript® III según el protocolo descrito por el fabricante. La desnaturalización del ARN molde, se realizó empleando una cantidad de ARN total de partida de 250 ng, durante 5 min a 65°C y en presencia de oligo (dT) 12-18 y dNTPs (desoxinucleósidos-trifosfato). La muestra se deja enfriar en hielo por 1 minuto, se añade la segunda mezcla (tampón, DTT, inhibidor de las RNAsas, MgCl₂, 1 µl de la enzima SuperScript® III) hasta completar 20 µl. La síntesis de ADNc tuvo lugar a 50°C durante 50 min, la reacción se detiene a 85°C por 5 min y se terminó por hidrolizar el ARN incubando las muestras a 37°C durante 20 min con la enzima RNasa H suministrada en el kit.

4.2.4.3.- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta técnica se utilizó para la amplificación de fragmentos de ADNc obtenido a partir oviductos de diferentes especies (mujer, cerda y yegua), para determinar la expresión de ARNm de SPAM1.

El diseño de cebadores se realizó con las siguientes indicaciones: una longitud de 15 a 30 nucleótidos, un contenido de G y C de 40-60%, una o dos G o C en el extremo 5', la diferencia de temperatura *melting* o de fusión (T_m) de los dos cebadores usados no fue mayor a 5°C (Tabla 9). El cálculo de la T_m se hizo mediante la siguiente fórmula:

$$T_m (\text{°C}) = 2(A+T) + 4(C+G).$$

La enzima utilizada para esta técnica fue la misma para todas las muestras, *Taq DNA Polymerase* (Fermentas), el protocolo fue el recomendado por el fabricante (2 µl del ADN, 5 µl de tampón, 2,5 µl de cada cebador a 100 µM, 4 µl de MgCl₂ al 2 mM, 4 µl dNTPs a 10 mM, 29 µl de H₂O Milli-Q, y 1 µl de enzima) obteniendo un volumen final de 50 µl. Las amplificaciones de PCR se hicieron en un termociclador de

Eppendorf®, las condiciones de amplificación fueron iguales para todas las muestras con la única variación de la temperatura de fusión de los cebadores. Básicamente consistió en 29 ciclos, cada ciclo de PCR constó de tres pasos: 45 segundos a 95°C (desnaturalización), 1 min entre 56-60°C (hibridación) y 1 min a 72°C como extensión de la cadena naciente y al final de los ciclos una extensión de 10 min a 72°C.

Tabla 9 Cebadores utilizados para amplificar SPAM1 por PCR en diferente especies de mamíferos.

| Muestra | Tamaño de | Secuencia de cebador | Dirección |
|---------|-----------|-----------------------------|-----------|
| Vaca | 210 | 5'-CCTATTACATACCAAATGACA-3' | Directo |
| | | 5'-CTTGCATGAAACTCTTTCCTG-3' | Reverso |
| Yegua | 755 | 5'-GGGAGTGCTAAGGATCCAG-3' | Directo |
| | | 5'-CAGTGCTTTCCTTCCACAAC-3' | Reverso |
| Cerde | 262 | 5'-CTAACAGACTTGGCTACTATC-3' | Directo |
| | | 5'-GCTGAACCAACTCAATAGAC-3' | Reverso |
| Mujer | 771 | 5'-GGGTAAACCAAAGTGTGTAGG-3' | Directo |
| | | 5'-GCAACTTCCATTGTAACCGG-3' | Reverso |

4.2.4.4.- Electroforesis en gel de agarosa

Para la visualización de los productos amplificados por PCR, se cargaron en geles de agarosa, 4 µl del producto de PCR. La preparación del gel fue con tampón comercial TAE 1X (Tris Acetato 40 mM y EDTA 1 mM, pH 8,3) y 1% de agarosa para biología molecular. Una vez polimerizado los geles fueron colocados en una cubeta de recorrido con medio TAE. 4 µl de producto de PCR, fue preparado con 2 µl de tampón de carga 6X (Tris-HCl 10 mM, azul de bromofenol 0,03%, xileno-cianol 0,03%, glicerol 60% y EDTA 60 mM) y 6 µl de agua de biología molecular. En las calles de los extremos se cargaron marcadores de ADN utilizados como referencia. Los 12 µl totales fueron cargados en cada calle de los geles. Las condiciones de recorrido fueron de 60 V por 15 min y 100 V por 35 min a RT.

La visualización se hizo en un equipo con rayos UV, para ello los geles fueron incubados en un medio con bromuro de etidio (2 µg/ml)

durante 20 min a RT. Si las bandas se observaron limpias, los productos de PCR restante, fueron purificados y concentrados con un kit comercial (ZYMO) siguiendo las indicaciones del fabricante.

La secuenciación se realizó de manera automática en el servicio central de biología molecular de la Universidad de Murcia. Las secuencias fueron comprobadas una a una, haciendo un alineamiento automático, utilizando la herramienta *blast*[®] disponible en la página web de NCBI y con el software Chromas lite versión 2.1.1 (Technelysium Pty Ltd, Queensland, Australia).

4.2.4.5.- *Análisis de micromatrices (Microarray)*

4.2.4.5.1.- Preparación de muestras y el procesamiento de microarray

La técnica de microarray es una técnica que nos permite medir los niveles de expresión de un gran número de transcritos simultáneamente. En este trabajo utilizamos esta técnica para detectar la expresión génica del epitelio oviductal y del endometrio, esto para determinar las similitudes y diferencias de expresión de genes en ambos tejidos, así, nos dio una idea general mediante el transcriptoma de la funcionalidad de estos tejidos en la fase periovulatoria del bovino. La plataforma de Agilent Technologies de un color, que utiliza la cianina 3 como marcador. Esta técnica de un color nos indica la expresión génica de los genes en una muestra dada y una comparación con otras muestras en condiciones de igualdad en su procesamiento e hibridación.

El protocolo a seguir de la técnica de microarray se describe brevemente en la figura 39. Se inicia con la preparación de las muestras. Para el etiquetado de las muestras se utilizó un kit de etiquetado y el kit amplificación y marcado de un color de Agilent Technologies.

El primer paso fue diluir la mezcla que contiene el marcador de cianina 3, para ello, se procedió a descongelar el vial de la mezcla a 37°C durante 5 minutos, las diluciones seriadas (1:20, 1:25 y 1:20) se

hicieron con el tampón de dilución contenido en el kit. Para marcar 100 ng de ARNc (en 1,5 μ l) se necesitaron 2 μ l de la dilución final. A esta muestra se le añade la enzima T7 (0,8 μ l de T7 en 1 μ l de agua) que amplifica e incorpora simultáneamente la cianina 3 al ADNc. Teniendo un volumen final de 5,3 μ l, se incubaba a 65°C por 10 min, la reacción se detuvo poniendo el vial en hielo por 5 minutos. Se le agregan 4,7 μ l del mix de ADNc (5 μ l del tampón 5 \times First Strand, 1 μ l de DTT 0,1 M, 10 mM dNTP Mix y 1,2 μ l de Affinity Script RNase Block Mix), se incubaba a 40°C por 2 horas y después a 70°C por 15 minutos. A esta mezcla se le agrega 6 μ l del mix de transcripción (0,75 μ l de agua, 3,2 μ l de 5 \times Transcription Buffer, 0,6 μ l de DTT 0,1 M, 1 μ l de NTP Mix, 0,21 de T7 RNA Polymerase Blend y 0,24 μ l de Cyanine 3-CTP) y se incubaba por 2 horas a 40°C. La purificación de ARNc se hizo con las columnas del kit comercial Qiagen siguiendo las recomendaciones del fabricante.



Figura 39 Diagrama de flujo de trabajo para la preparación de muestras y su procesamiento para el análisis de micromatrices (microarray).

La concentración de ARNc, el ratio de absorbancia y la concentración de cianina 3 etiquetada en el ARNc se midieron con un nanodrop, para determinar el rendimiento y la actividad específica de cada reacción, se calculó del siguiente modo:

- a) Se utilizó la concentración de ARNc (ng/μl) para determinar el rendimiento de ARNc de la siguiente manera:

$$(\text{Concentración de ARNc}) \times 30 \mu\text{l (volumen de elución)} \div 1000 = \mu\text{g de ARNc}''$$

- b) Se utilizó la concentración de ARNc (ng/μl) y la concentración de cianina 3 (pmol/μl) para determinar la actividad específica de la siguiente manera:

$$\text{Concentración de Cy3} \div \text{Concentración de ARNc} \times 1000 = \text{pmol por } \mu\text{g ARNc}$$

4.2.4.5.2.- Análisis de la integridad del ARN

Para realizar el análisis de micromatrices se seleccionaron hasta un total de 16 muestras, todas ellas de la región ipsilateral del oviducto y útero de 6 novillas (45, 54, 55, 60, 73 y 92). Seis de estas muestras fueron de la región de la ampolla (O_a), 5 de la unión istmo ampular del oviducto (O_u) y 5 más de la región craneal del endometrio (U_cr). El ARN total se aisló de estas muestras. 50 ng de ARN total fueron corridas en un gel de agarosa (TAE, agarosa 1%) para comprobar la calidad del ARN. (Fig. 40) Se observaron dos bandas de intensa fluorescencia, que representan el ARN ribosomal (ARNr) 28 S y 18 S. La banda que representa el ARNr 28 S muestra mayor intensidad, lo que es indicativo de la integridad del ARN total.

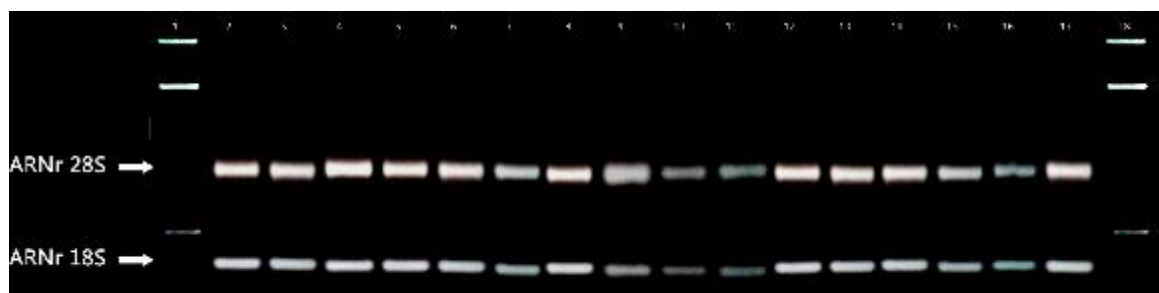


Figura 40 Visualización de ARN ribosomal en gel de agarosa (1%) incubado en bromuro de etidio. Muestras de la región de la ampolla oviductal (calle 2-7), de la unión istmo ampular (calle 8-12) y de la región craneal del endometrio (calle 13-17) de vaquillas. Marcador (carril 1 y 18).

Adicionalmente a la visualización del ARN en gel de agarosa se determinó la integridad del ARN de las muestra mediante nano chips de ARN en bioanalizador. (Bioanalyzer 2100, Agilent ®). La imagen de la electroforesis obtenida con el bionalizador se muestra en la figura 41.

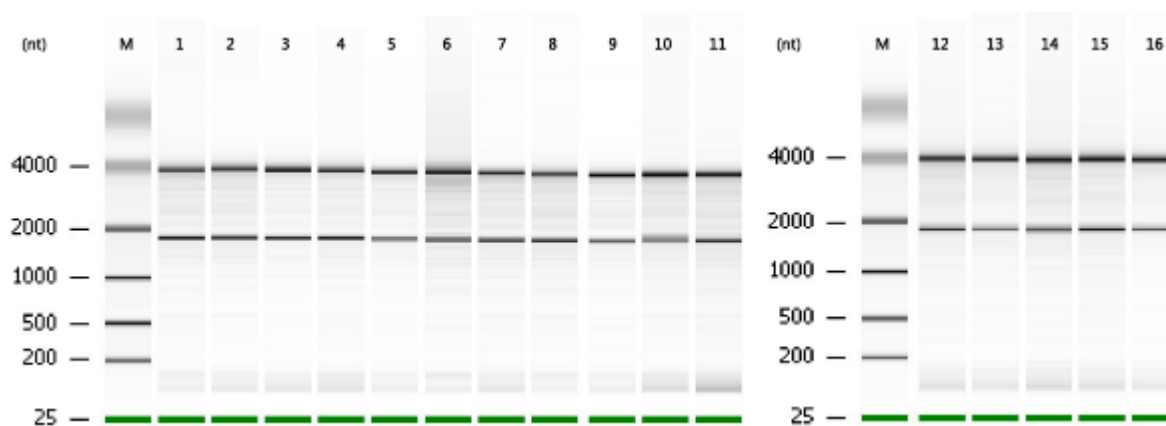


Figura 41 Imagen de electroforesis de ARN, generada por bionalizador Agilent. Muestras de ARN total de muestra obtenidas de región ampular (calle 1-6), y unión istmo ampular del oviducto (7-11). ARN total de muestras obtenidas de endometrio en su región craneal. Marcador (M), nucleótidos (nt).

Los datos de calidad de ARN arrojados por el bioanalizador mostraron que todas las muestras tenían un "RNA Integrity Number" (RIN) mayor al 7,9; por lo tanto, todas ellas fueron utilizadas para la posterior hibridación en los "slides" del microarray.

4.2.4.5.3.- Hibridación

Para la hibridación en el formato que utilizamos de microarray fue el de 8x60K, en un formato personalizado con la base de datos de *Bos taurus*. Las muestras debían de superar un rendimiento de 1.65 µg y una actividad específica de al menos 6,0 pmol de Cy3 por µg de ARNc.

Para la hibridación se utilizó el kit de Agilent, se preparó la mezcla de hibridación con 600 ng de ARNc hasta completar 19 µl con agua para biología molecular, 5 µl de 10× Blocking Agent y 1 µl de 25× Fragmentation Buffer, teniendo con esto un volumen final 25 µl. Esta mezcla se incubó a 60°C por 30 minutos para la fragmentación del ARN. La fragmentación se detiene con el enfriamiento en hielo (1 min) de las muestras y la adición de 25 µl de 2× Hi-RPM Hybridization Buffer. Para evitar las burbujas en la solución, ésta se mezcla por pipeteo y se

centrifuga a 13000g por 1 min a RT. Las muestras se colocaron en hielo dejando pasar el menor tiempo posible antes del cargado de la muestra en los “slides”.

Para el montaje de la cámara de hibridación (Fig. 42a) se siguieron las instrucciones del fabricante incluidas en la guía G2534-90002 (Agilent G2534A Microarray Hybridization Chamber User Guide). De la mezcla de hibridación (50 μ l) sólo se cargaron 40 μ l de cada muestra, estas se cargaron lentamente para evitar tocar la goma y las múltiples burbujas (Fig. 42c). Los “slides” ya montados se introdujeron en un horno de hibridación por 17 horas a 65°C y a una velocidad de 10 rpm.

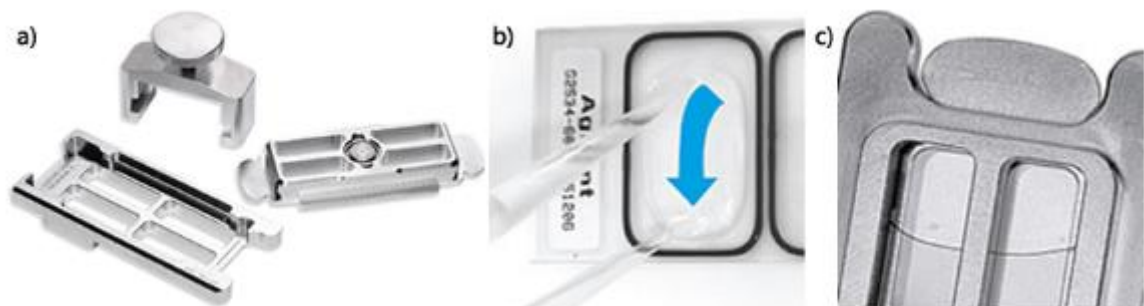


Figura 42 Cámara de hibridación de micromatrices Agilent a). Ejemplo de carga de muestras en los slides b). Burbujas deseables una vez montados los slides en la cámara de hibridación c).

4.2.4.5.4.- Lavado y escaneo de Microarray

El kit utilizado para el lavado de los “slides” de microarray fue de Agilent Technologies, antes del inicio hay que verificar que el Triton 102 incluido en el kit ha sido agregado a los tampones de lavado I y II, para así tener una concentración de Triton 102 de 0,005%. El protocolo de lavado fue un primer lavado con el tampón I, el siguiente lavado se hizo con el tampón I por 1 min a RT. Posteriormente, se lavó con el tampón II a 31°C tras los lavados, se procedió inmediatamente al escaneo.

Los “slides” fueron escaneados con una resolución de 2 μ m con un escáner de micromatrices de Agilent Technologies. El procesamiento de imágenes se realizó con el software de extracción de Agilent Technologies versión 10.7.3.1.

4.2.4.5.5.- Análisis de Microarray

Las señales obtenidas con el escáner fueron filtradas por *flags* o banderas en base a “*que están muy por encima del background*”. Las banderas se utilizan entonces para el filtrado de las señales, es decir, se eliminaron todas las sondas que no fueron detectables (bandera = 0) por lo menos 4 muestras en uno de los grupos experimentales. Posteriormente, los datos filtrados fueron normalizados con el paquete VSN (Bioconductor). El análisis estadístico se realizó con el paquete Limma (Bioconductor), con el software Microsoft Excel se realizó el filtrado de falsos descubrimientos (FDR 1%) para la comparativa entre las muestras de oviducto *versus* útero.

Los conjuntos de transcritos expresados diferencialmente fueron seleccionados bajo estrictas condiciones (valor umbral de la expresión diferencia de ≥ 2 veces), los transcritos con reducidas diferencias de expresión no se consideraron como diferencialmente expresados. Para determinar el agrupamiento de las sondas según su perfil expresión, se utilizó el algoritmo SOTA (Herrero et al., 2001). Este algoritmo del tipo jerárquico divisivo se encarga de examinar todos los perfiles de expresión de las diferentes muestras y en base a su comportamiento de expresión génica asigna los grupos de muestras en grupos con el mismo perfil de expresión. Este tipo de análisis ha sido utilizado y publicado anteriormente (Mitko et al., 2008, Merkl et al., 2010) por el grupo de investigación del laboratorio de análisis de genómica funcional (LAFUGA) donde fue realizado el microarray de esta tesis.

4.2.4.5.6.- Análisis funcional de datos de Microarray

El análisis de los datos obtenidos y la clasificación funcional se hizo con la herramienta “Functional annotation clustering” de la base de datos DAVID (Huang et al., 2009b, Huang et al., 2009a). Estos datos nos permitieron elaborar los listados de funcionalidad (GO). Para elaborar las redes de interacción por evidencia se utilizó la herramienta bioinformática de STRING 9.1 (Franceschini et al., 2013).

5 RESULTADOS PREFUNDIZADOS

5.1.- ANÁLISIS DEL OVIDUCTO Y ÚTERO BOVINO EN FASE PERIOVULATORIA

5.1.1.- Análisis de micromatrices

Después del procesamiento de los datos y la normalización de ellos, se observó que una de las muestras de endometrio y otra de la unión istmo ampular, mostraban un patrón de expresión que difería con las otras muestras de su mismo tipo. Por lo tanto, se determinó excluirlas del análisis de microarray. Posterior a esta exclusión se realizó la normalización de los datos (Fig. 43) y una representación gráfica de la agrupación jerárquica por colores "Heatmap" (Fig. 44) con el fin agrupar los conjuntos de datos de las muestras individuales de acuerdo a sus correlaciones de expresión.

El análisis estadístico de datos de microarray reveló más de 8000 transcritos con diferencias significativas en la intensidad de señal en las regiones del oviducto y útero estudiadas (datos obtenidos a través del paquete bioinformático BioConductor, multiclase FDR 1%). Lo que equivale a 5509 genes diferentes.

Para clasificar estos genes en función de su expresión génica en los tejidos estudiados se elaboraron una agrupación basada en la similitud de los perfiles de expresión (SOTA) (Herrero et al., 2001). Que es un tipo de análisis jerárquico divisivo, esto para identificar los genes regulados de manera similar. Este análisis reveló seis principales perfiles de expresión (Fig. 45).

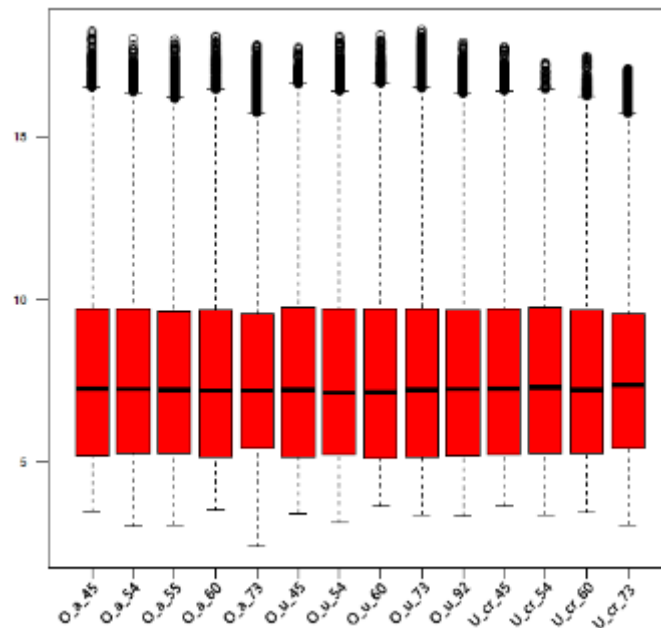


Figura 43 Diagrama de caja de las 14 muestras filtradas para sondas detectables y normalizadas con el paquete VSN de BioConductor. Muestras de ampolla oviductal (O_a), unión istmo ampular del oviducto (O_u) y endometrio en su porción craneal (U_cr).

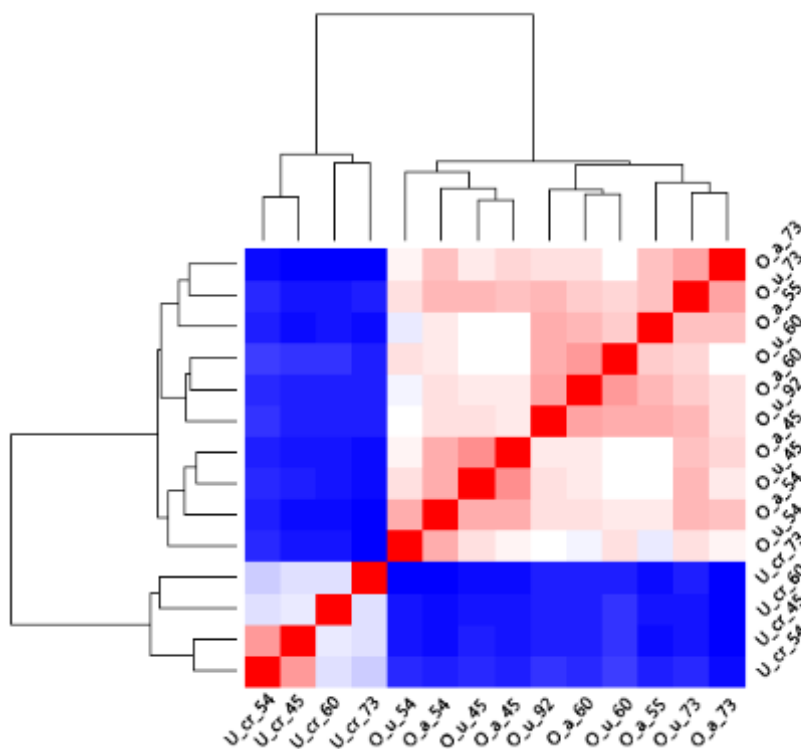


Figura 44 Heatmap de correlación de pares de conjunto de datos de normalizados de micromatrices. Generado con el paquete geneplotter de BioConductor. Muestras de ampolla oviductal (O_a), unión istmo ampular del oviducto (O_u) y endometrio en su porción craneal (U_cr).

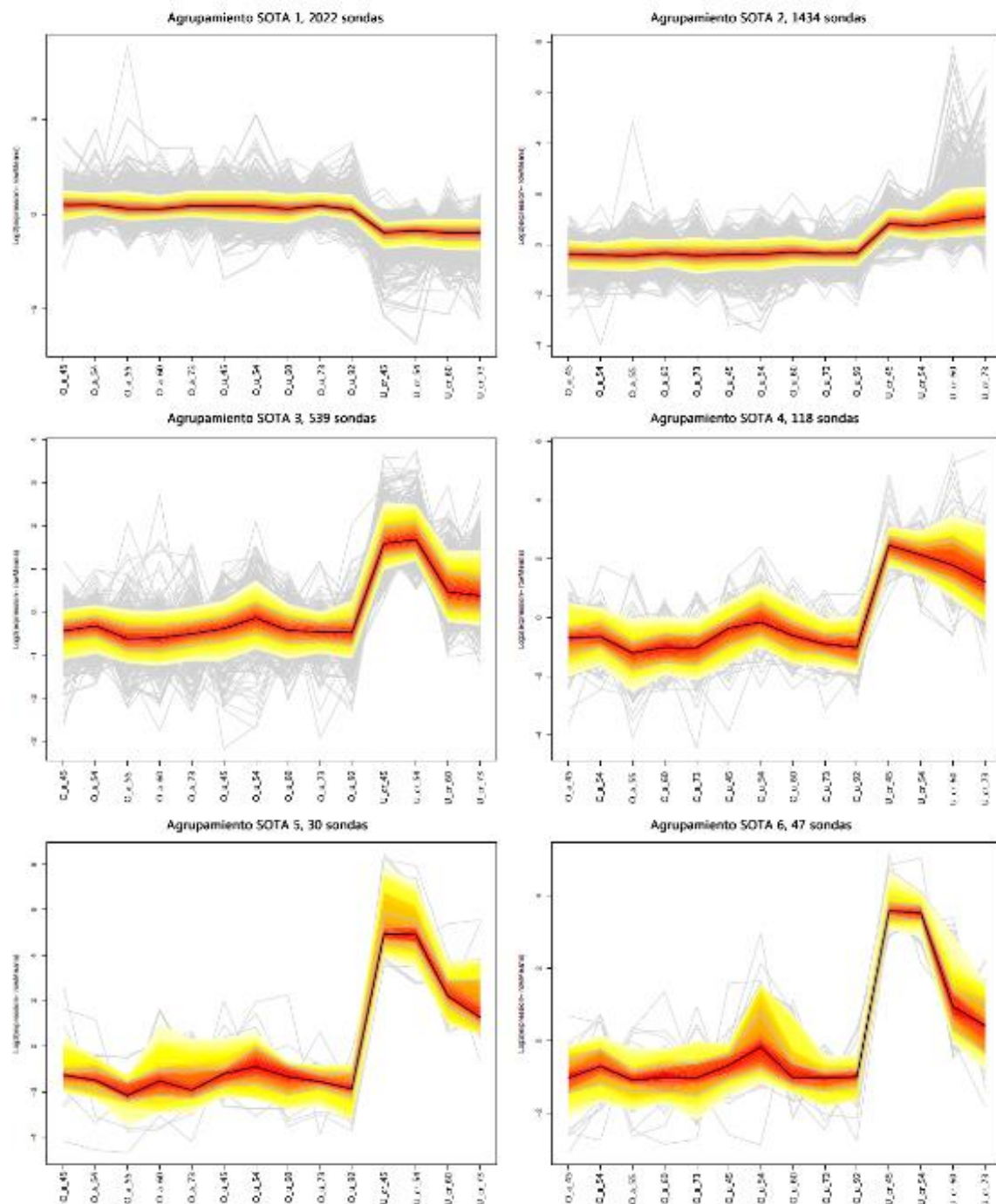


Figura 45 Seis agrupamientos tipo SOTA basados en la similitud en los perfiles de expresión génica en los tejidos estudiados. Los valores presentados fueron obtenidos después de la normalización de los datos (escala \log_2). En el eje vertical se muestran en escala \log_2 . El eje horizontal muestra los diferentes tejidos empleados en este estudio [ampolla oviductal [ampolla oviductal (O_a), unión istmo ampular del oviducto (O_u) y endometrio en su porción craneal (U_cr)].

El primer agrupamiento SOTA1 incluía 2022 sondas, al eliminar las sondas duplicadas se identificaron 1523 transcritos diferentes (Anexo II). Este grupo se caracteriza por mostrar una expresión diferencial incrementada entre las muestras de oviducto (O_a y O_u) y una

expresión disminuida en las muestras de endometrio (U_cr). Los datos de este grupo fueron clasificados con la herramienta bioinformática DAVID, pero sólo fueron identificados 1062. Posteriormente se realizó la clasificación de los GO (Tabla 10).

Tabla 10 GO de genes pertenecientes al agrupamiento SOTA1, obtenidos con la herramienta DAVID

| GO id | Nombre | Número de genes | p-valor* |
|------------|---|-----------------|----------|
| GO:0003824 | Actividad catalítica | 221 | 0.027931 |
| GO:0016740 | Actividad transferasa | 79 | 0.034415 |
| GO:0005215 | Actividad de transportador | 56 | 0.017446 |
| GO:0005509 | Unión de iones de calcio | 46 | 0.000553 |
| GO:0022892 | Actividad del transportador específico del sustrato | 46 | 0.022656 |
| GO:0022857 | Actividad del transportador transmembrana | 44 | 0.021674 |
| GO:0022891 | Actividad del transportador transmembrana-sustrato | 41 | 0.024299 |
| GO:0015075 | Actividad del transportador transmembrana de iones | 38 | 0.019023 |
| GO:0030001 | El transporte de iones de metal | 22 | 0.063836 |
| GO:0022803 | Actividad del transportador transmembrana pasiva | 22 | 0.045349 |
| GO:0032879 | Regulación de la localización | 21 | 0.012978 |
| GO:0022838 | Actividad del canal específico sustrato | 21 | 0.065865 |
| GO:0005216 | La actividad del canal de iones | 20 | 0.097029 |
| GO:0007154 | Comunicación celular | 19 | 0.039934 |
| GO:0032989 | Morfogénesis componente celular | 15 | 0.005393 |
| GO:0030246 | Unión de hidratos de carbono | 15 | 0.020092 |
| GO:0007017 | Proceso basado en microtúbulos | 14 | 0.019755 |
| GO:0003774 | La actividad motora | 13 | 0.010058 |
| GO:0030030 | Organización proyección celular | 12 | 0.033154 |
| GO:0019637 | Proceso metabólico organofosforados | 11 | 0.046759 |
| GO:0051094 | Regulación positiva del proceso de desarrollo | 11 | 0.066616 |
| GO:0030182 | Diferenciación de las neuronas | 11 | 0.095084 |
| GO:0043623 | Proteína celular complejo montaje | 10 | 0.030733 |
| GO:0006644 | Metabolismo de fosfolípidos | 10 | 0.059301 |
| GO:0009100 | Glicoproteína proceso metabólico | 10 | 0.062534 |
| GO:0048666 | El desarrollo de las neuronas | 10 | 0.072895 |

*P valor calculado con DAVID

El segundo agrupamiento SOTA2 incluía 1434 sondas, al eliminar las sondas duplicadas se identificaron 1079 transcritos diferentes (Anexo III). Este grupo se observó una expresión disminuida en las muestras de oviducto (O_a y O_u) y una expresión incrementada en las muestras de tejido endometrial (U_cr). Estos datos fueron clasificados con la herramienta bioinformática DAVID, pero sólo fueron identificados 824. Posteriormente se realizó la clasificación de los GO (Tabla 11).

Tabla 11 GO de genes pertenecientes al agrupamiento SOTA2, obtenidos con la herramienta DAVID

| GO id | Nombre | Número de genes | p-valor* |
|------------|--|-----------------|----------|
| GO:0005488 | Unión | 390 | 0.003509 |
| GO:0005515 | Proteína de unión | 245 | 0.000000 |
| GO:0065007 | Regulación biológica | 211 | 0.000000 |
| GO:0050794 | Regulación del proceso celular | 198 | 0.000000 |
| GO:0032501 | Proceso de organismo multicelular | 99 | 0.000009 |
| GO:0060089 | Actividad transductor molecular | 91 | 0.062040 |
| GO:0032502 | Proceso de desarrollo | 83 | 0.000014 |
| GO:0007165 | Transducción de señales | 77 | 0.000006 |
| GO:0050896 | Respuesta al estímulo | 76 | 0.004798 |
| GO:0048856 | Desarrollo de la estructura anatómica | 67 | 0.000044 |
| GO:0048731 | Desarrollo del sistema | 60 | 0.000235 |
| GO:0048513 | Desarrollo de órganos | 50 | 0.000755 |
| GO:0030528 | Transcripción regulador de la actividad | 43 | 0.049284 |
| GO:0010646 | Regulación de la comunicación celular | 42 | 0.000041 |
| GO:0007242 | Cascada de señalización intracelular | 40 | 0.000876 |
| GO:0048869 | Proceso de desarrollo celular | 39 | 0.049415 |
| GO:0030154 | Diferenciación celular | 38 | 0.044237 |
| GO:0005509 | Unión de iones de calcio | 37 | 0.009398 |
| GO:0005102 | Unión al receptor | 36 | 0.000454 |
| GO:0002376 | Proceso del sistema inmune | 33 | 0.011052 |
| GO:0006629 | Metabolismo lipídico | 32 | 0.007624 |
| GO:0003700 | Actividad del factor de transcripción | 31 | 0.025281 |
| GO:0042127 | Regulación de la proliferación celular | 31 | 0.000011 |
| GO:0009653 | Estructura anatómica morfogénesis | 31 | 0.014260 |
| GO:0051239 | Regulación de los procesos del organismo | 29 | 0.012803 |
| GO:0008092 | Unión a proteína del citoesqueleto | 28 | 0.000002 |
| GO:0032879 | Regulación de la localización | 27 | 0.000017 |
| GO:0007155 | La adhesión celular | 26 | 0.004264 |
| GO:0043565 | Secuencia específica de unión al ADN | 25 | 0.009606 |
| GO:0009605 | Respuesta a estímulo externo | 25 | 0.008605 |
| GO:0009893 | Regulación positiva del proceso metabólico | 25 | 0.020457 |
| GO:0022607 | Montaje de componentes celulares | 25 | 0.062480 |
| GO:0050793 | Regulación del proceso de desarrollo | 24 | 0.002582 |
| GO:0042981 | Regulación de la apoptosis | 24 | 0.010297 |
| GO:0010941 | Regulación de la muerte celular | 24 | 0.011964 |
| GO:0031325 | Regulación positiva del proceso metabólico | 24 | 0.018356 |
| GO:0065009 | Regulación de la función molecular | 24 | 0.041715 |
| GO:0007399 | Desarrollo del sistema nervioso | 23 | 0.018419 |
| GO:0019752 | Proceso metabólico ácido carboxílico | 23 | 0.045952 |
| GO:0043436 | Proceso metabólico oxoácido | 23 | 0.045952 |
| GO:0006082 | Proceso metabólico ácido orgánico | 23 | 0.047236 |
| GO:0042180 | Proceso metabólico cetona celular | 23 | 0.061809 |

| | | | |
|------------|--|----|----------|
| GO:0006952 | Respuesta de defensa | 22 | 0.001601 |
| GO:0006955 | Respuesta inmune | 22 | 0.031447 |
| GO:0010557 | Regulación positiva del proceso de biosíntesis | 20 | 0.020257 |
| GO:0031328 | Regulación positiva del proceso de biosíntesis | 20 | 0.030366 |
| GO:0009891 | Regulación positiva del proceso biosintético | 20 | 0.034014 |
| GO:0050790 | Regulación de la actividad catalítica | 20 | 0.094301 |

*P valor calculado con DAVID

El tercer agrupamiento SOTA3 incluía 539 sondas, al eliminar las sondas duplicadas se identificaron 412 transcritos diferentes (Anexo IV). Este grupo se observó una expresión disminuida en las muestras de oviducto (O_a y O_u) y una expresión incrementada en las muestras de tejido endometrial (U_cr). Estos datos fueron clasificados con la herramienta bioinformática DAVID, pero sólo fueron identificados 312. Posteriormente se realizó la clasificación de los GO (Tabla 12).

Tabla 12 GO de genes pertenecientes al agrupamiento SOTA3, obtenidos con la herramienta DAVID

| GO id | Nombre | Número de genes | p-valor* |
|------------|--|-----------------|----------|
| GO:0005515 | Proteína de unión | 83 | 0.043262 |
| GO:0051179 | Localización | 42 | 0.015361 |
| GO:0032501 | Proceso del organismo multicelular | 41 | 0.000371 |
| GO:0016787 | Actividad hidrolasa | 38 | 0.044778 |
| GO:0006810 | Transporte | 36 | 0.061009 |
| GO:0051234 | Establecimiento de la localización | 36 | 0.065621 |
| GO:0050896 | Respuesta al estímulo | 35 | 0.001660 |
| GO:0007275 | Desarrollo del organismo pluricelular | 26 | 0.031512 |
| GO:0032502 | Proceso de desarrollo | 26 | 0.086115 |
| GO:0048518 | Regulación positiva de proceso biológico | 21 | 0.033090 |
| GO:0002376 | Proceso del sistema inmune | 20 | 0.000208 |
| GO:0006950 | Respuesta al estrés | 18 | 0.043908 |
| GO:0005509 | Unión de iones de calcio | 15 | 0.073775 |

*P valor calculado con DAVID

El cuarto agrupamiento SOTA4 incluía 118 sondas, al eliminar las sondas duplicadas se identificaron 97 transcritos (Anexo V). En este grupo se observó una expresión disminuida en las muestras de oviducto (O_a y O_u) y una expresión incrementada en las muestras de endometrio (U_cr). Estos datos fueron clasificados con la herramienta bioinformática DAVID,

pero sólo fueron identificados 81. Posteriormente se realizó la clasificación de los GO (Tabla 13).

Tabla 13 GO de genes pertenecientes al agrupamiento SOTA4, obtenidos con la herramienta DAVID

| GO id | Nombre | Número de genes | p-valor* |
|------------|--|-----------------|----------|
| GO:0065007 | Regulación biológica | 25 | 0.015431 |
| GO:0050789 | Regulación de proceso biológico | 24 | 0.013209 |
| GO:0050794 | Regulación del proceso celular | 23 | 0.013422 |
| GO:0032501 | Proceso del organismo multicelular | 12 | 0.067662 |
| GO:0031323 | Regulación de los procesos metabólicos celulares | 12 | 0.096001 |
| GO:0048856 | Desarrollo de la estructura anatómica | 11 | 0.008416 |
| GO:0007275 | Desarrollo del organismo pluricelular | 11 | 0.021512 |
| GO:0032502 | Proceso de desarrollo | 11 | 0.040500 |
| GO:0051171 | La regulación de los procesos metabólicos compuesto de nitrógeno | 11 | 0.072816 |
| GO:0009889 | Regulación del proceso biosintético | 11 | 0.093598 |

*P valor calculado con DAVID

El quinto agrupamiento SOTA5 incluía 30 sondas, al eliminar las sondas duplicadas se identificaron 97 transcritos (Anexo VI). En este grupo se observó una expresión disminuida en las muestras de oviducto (O_a y O_u) y una expresión incrementada muy evidente en las muestras de endometrio (U_cr). Estos datos fueron clasificados con la herramienta bioinformática DAVID, fueron identificados 17 transcritos. Posteriormente se realizó la clasificación de los GO (Tabla 14).

Tabla 14 GO de genes pertenecientes al agrupamiento SOTA5, obtenidos con la herramienta DAVID

| GO id | Nombre | Número de genes | p-valor* |
|------------|--|-----------------|----------|
| GO:0007166 | Receptor de superficie celular de transducción | 5 | 0.053997 |
| GO:0005102 | Unión al receptor | 4 | 0.009326 |
| GO:0050793 | Regulación del proceso de desarrollo | 3 | 0.030081 |
| GO:0051239 | Regulación de los procesos del organismo | 3 | 0.060508 |
| GO:0043270 | Regulación positiva de transporte de iones | 2 | 0.013707 |
| GO:0007178 | Serina proteína del receptor transmembrana / | 2 | 0.043677 |
| GO:0007218 | Vía de señalización neuropéptido | 2 | 0.052810 |

*P valor calculado con DAVID

El sexto y último agrupamiento SOTA6 incluía 47 sondas, al eliminar las sondas duplicadas se identificaron 40 transcritos (Anexo VII). En este grupo se observó una expresión disminuida en las muestras de oviducto (O_a y O_u) y una expresión incrementada muy evidente en las muestras

de endometrio (U_cr). Debido al bajo número de genes no fue posible realizar la tabla de GO.

Otro tipo de análisis que se realizó con los datos obtenidos del análisis de micromatrices nos indicó que hasta en un total de 8042 sondas presentaron una variación significativa de expresión en los tejidos estudiados. Estas sondas se corresponde con 5509 genes. Para nuestro análisis estos genes fueron filtrados (fold change $\text{Log}_2 \geq 2$). Después del filtrado un total de 1191 transcritos diferentes fueron los que presentaron una variación estadísticamente significativa entre las muestras de oviducto y endometrio. Los datos obtenidos indican que la comparativa entre el endometrio (U_cr) y la ampolla oviductal (O_a) hasta 1078 genes suben en endometrio y 751 bajan en la ampolla. Los datos entre el endometrio (U_cr) y la unión istmo ampular (O_u), indicaron que en el endometrio suben hasta 1041 genes y 732 genes bajan en el oviducto (Fig. 46).

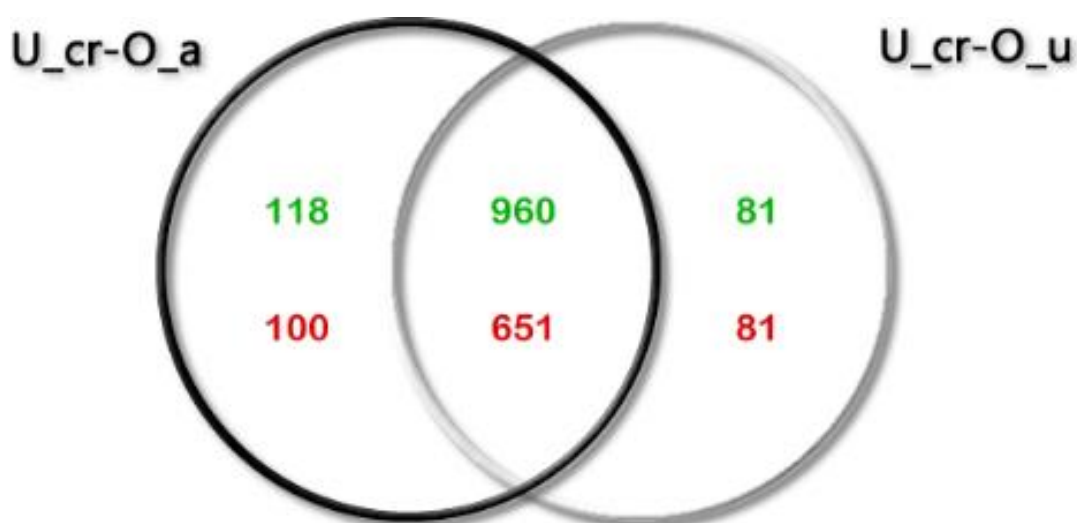


Figura 46 Diagrama de Venn de los genes diferencialmente expresados entre las muestras de endometrio (U_cr) y las dos regiones del oviducto (O_a y O_u). En verde se muestran el número de genes con expresión incrementada en el endometrio y en rojo la expresión disminuida en comparación con el oviducto.

Para determinar los transcritos expresados específicos de endometrio y oviducto se consideraron el total 5509 genes. El filtro para determinar a qué grupo pertenecían se fijó en un fold change $\text{log}_2 \geq 4$. Todos los transcritos que se encontraron por debajo de este corte se consideraron como expresados en ambos tejidos. De estos genes 5160

fueron identificados como comunes para ambos tejidos, 61 del oviducto (Anexo VIII) y 288 (Anexo IX) del endometrio (Fig. 47).



Figura 47 Diagrama de Venn del transcriptoma de las muestras de endometrio y el oviducto.

La clasificación de los genes que no tenían una expresión diferencial ($\text{fold change } \log_2 \leq 4$) pero que sí se habían detectados como expresados en el endometrio y el oviducto les denominamos "comunes". Con estos genes se realizó la clasificación con la herramienta bioinformática DAVID. Los datos fueron clasificados por localización celular incluyendo además los que fueron clasificados como secretados. Esta clasificación nos mostró que 775 genes son de citoplasma, 406 del núcleo, 355 de la membrana plasmática y las que a nosotros más nos interesan son los genes clasificados como que sintetizan proteínas secretadas fueron 144 y 84 más del espacio extracelular (Fig. 48).

Para determinar los GO de los transcritos clasificados como secretados y del espacio extracelular (175 genes diferentes), fue utilizada la herramienta STRING 9.1. Los resultados obtenidos de los procesos biológicos y de funciones moleculares se muestran en la tabla 17. Adicionalmente con esta misma herramienta se realizó las redes de interacción por evidencia (Fig. 49).

Clasificación de genes expresados comunes entre endometrio y oviducto de la vaca

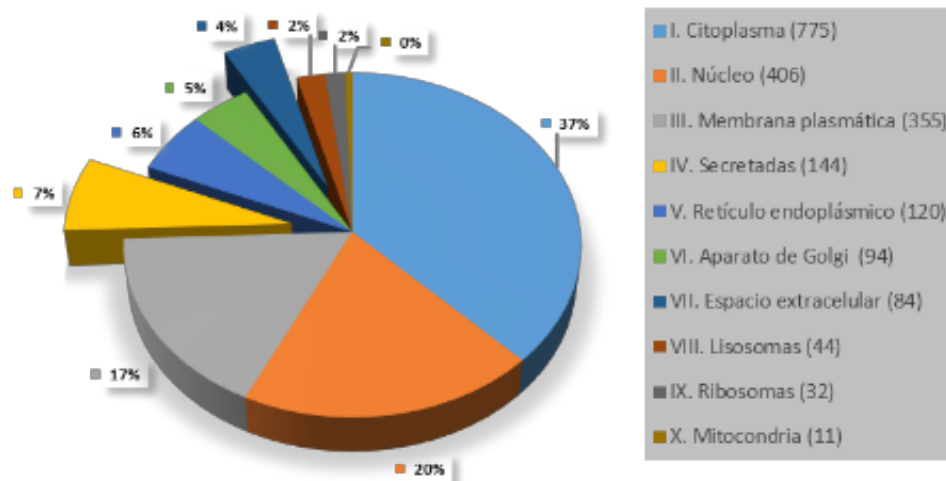


Figura 48 Gráfica de tarta de genes expresados comunes entre el endometrio y oviducto de la vaca. Clasificación realizada con la herramienta bioinformática DAVID.

Tabla 15 Gene Ontology (GO) de procesos biológicos y funciones moleculares de genes comunes de endometrio y oviducto, identificados como secretados y del espacio extracelular

| GO id | Nombre | Número de genes | p-valor |
|------------|---|-----------------|----------|
| GO:0008150 | Proceso biológico | 124 | 0.000045 |
| GO:0003674 | Función molecular | 112 | 0.006000 |
| GO:0005488 | Unión | 95 | 0.000014 |
| GO:0065007 | Regulación biológica | 89 | 0.000002 |
| GO:0050896 | Respuesta al estímulo | 87 | 0.000000 |
| GO:0005515 | Proteína de unión | 63 | 0.000000 |
| GO:0048856 | Desarrollo de la estructura anatómica | 58 | 0.000000 |
| GO:0048522 | Regulación positiva del proceso celular | 57 | 0.000000 |
| GO:0044238 | Proceso metabólico primario | 57 | 0.017000 |
| GO:0019222 | La regulación de los procesos metabólicos | 56 | 0.000010 |
| GO:0006950 | Respuesta al estrés | 45 | 0.000000 |
| GO:0023051 | Regulación de la señalización | 41 | 0.000000 |
| GO:0010646 | Regulación de la comunicación celular | 41 | 0.000000 |
| GO:0019538 | Proceso metabólico de proteínas | 41 | 0.000040 |
| GO:0032879 | Regulación de la localización | 40 | 0.000000 |
| GO:0007154 | La comunicación celular | 39 | 0.014500 |
| GO:0005102 | Unión al receptor | 38 | 0.000000 |
| GO:0010468 | La regulación de la expresión génica | 38 | 0.000613 |
| GO:0042221 | Respuesta a la química | 37 | 0.000004 |
| GO:0046872 | Ión de metal de unión | 33 | 0.030800 |
| GO:0003824 | Actividad catalítica | 33 | 0.806000 |

| | | | |
|------------|---|----|----------|
| GO:0030154 | La diferenciación celular | 33 | 0.000020 |
| GO:0048869 | Proceso de desarrollo celular | 33 | 0.000057 |
| GO:0007166 | Superficie de la célula vía de señalización | 33 | 0.000075 |
| GO:0006952 | Respuesta de defensa | 32 | 0.000000 |
| GO:0002682 | Regulación de proceso del sistema inmune | 31 | 0.000000 |
| GO:0009653 | Estructura anatómica morfogénesis | 31 | 0.000001 |
| GO:0031325 | Regulación positiva del proceso metabólico | 31 | 0.000003 |
| GO:0065008 | Regulación de la calidad biológica | 31 | 0.000009 |

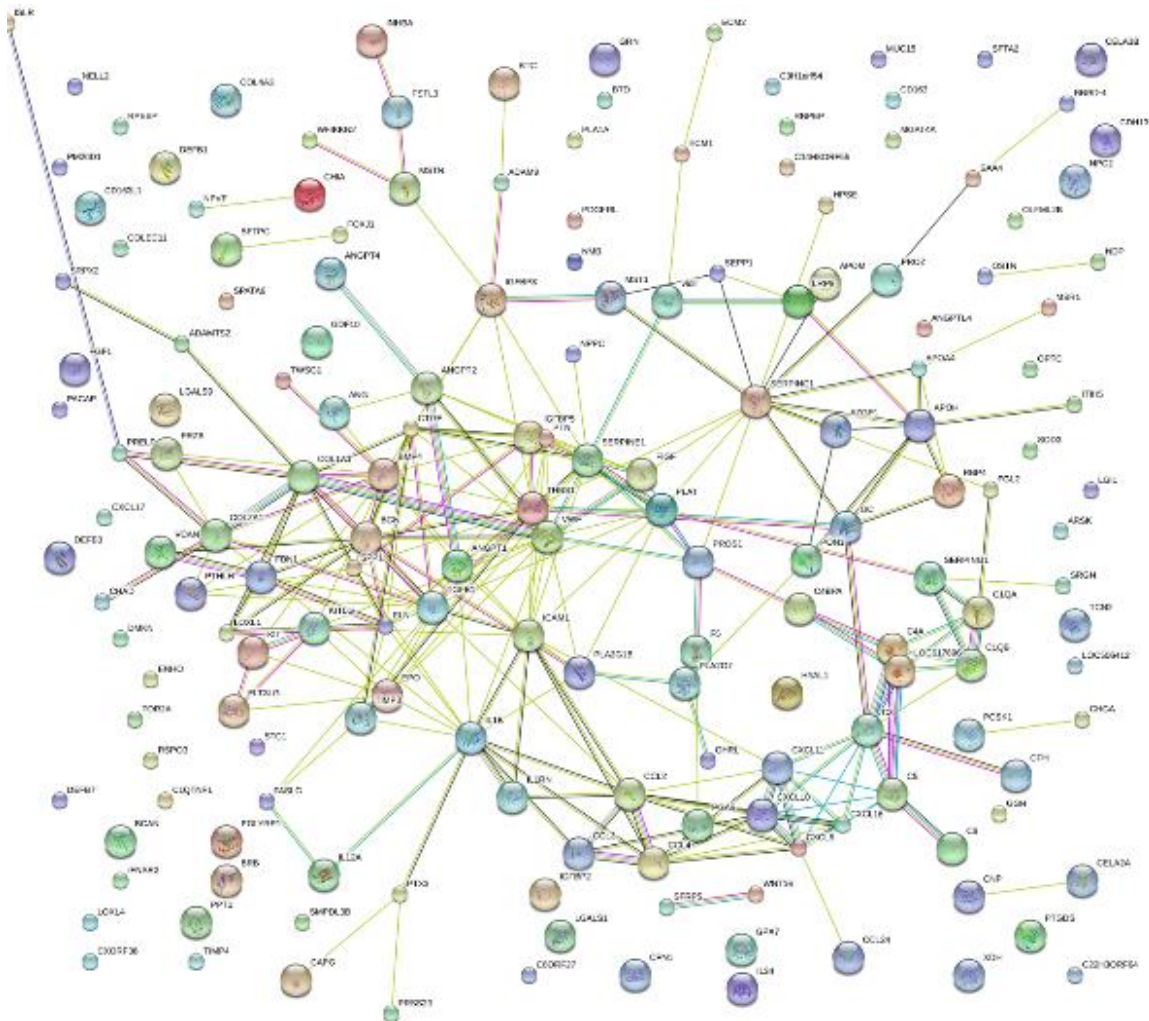


Figura 49 Redes de interacción por evidencia de los 175 genes clasificados como secretados y del espacio extracelular expresados comunes entre el endometrio y el oviducto de vaca *STRING 9.1* (Franceschini et al., 2013).

Los transcritos clasificados como secretados y del espacio extracelular únicos del oviducto se muestran en la tabla 16 y los del endometrio en la tabla 17.

Tabla 16 Proteínas únicas identificadas como secretadas y del espacio extracelular del oviducto de vaca.

| Número de acceso | Símbolo | Nombre | FC*(log2) U_cr/O_a | FC* (log2) U_cr/O_i | P-valor U_cr/O_a | P-valor U_cr/O_i | Media de señal |
|------------------|------------|---|-----------------------|------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|
| XM_003585814.2 | OVGP1 | Oviductal glycoprotein 1, 120kda | -13.08 | -13.10 | 0.0000 | 0.0000 | 13.23 |
| NM_001033936.1 | CFH | Complement factor H | -7.80 | -7.90 | 0.0000 | 0.0000 | 11.71 |
| NM_001100374.1 | MSLN | Mesothelin | -6.94 | -6.72 | 0.0000 | 0.0000 | 9.05 |
| XM_002690022.1 | CD109 | CD109 molecule | -6.19 | -6.36 | 0.0000 | 0.0000 | 12.66 |
| NM_001080219.1 | CHI3L1 | Chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39) | -5.96 | -6.15 | 0.0000 | 0.0000 | 9.88 |
| NM_001102054.1 | SERPINI2 | Serpin peptidase inhibitor, clade I (pancpin), member 2 | -5.91 | -5.19 | 0.0000 | 0.0000 | 8.33 |
| XM_001253283.2 | PDYN | Prodynorphin | -5.69 | -5.46 | 0.0000 | 0.0000 | 8.67 |
| XM_002688785.2 | MUC16 | Mucin 16, cell surface associated | -5.58 | -5.71 | 0.0001 | 0.0001 | 10.55 |
| NM_173877.1 | F2 | Coagulation factor II (thrombin) | -5.57 | -5.48 | 0.0000 | 0.0000 | 10.62 |
| XM_866224.2 | UTS2D | Urotensin 2 domain containing | -5.31 | -6.51 | 0.0000 | 0.0000 | 7.80 |
| XM_003585238.1 | PI3 | Peptidase inhibitor 3, skin-derived (SKALP) | -5.13 | -4.85 | 0.0000 | 0.0000 | 11.15 |
| XM_003585390.1 | BTRAPPIN-4 | Trappin 4 | -5.08 | -4.75 | 0.0000 | 0.0000 | 11.00 |
| XM_003582989.1 | BTRAPPIN-5 | Elafin-like | -5.02 | -4.84 | 0.0000 | 0.0000 | 11.00 |
| NM_001205278.1 | EXPI | Extracellular proteinase inhibitor | -5.00 | -6.23 | 0.0003 | 0.0000 | 9.26 |
| XM_614095.6 | FCGBP | Fc fragment of igg binding protein | -4.92 | -5.29 | 0.0000 | 0.0000 | 12.43 |
| NM_001101980.1 | COL17A1 | Collagen, type XVII, alpha 1 | -4.73 | -5.17 | 0.0000 | 0.0000 | 7.42 |
| NM_001075923.1 | ENPP3 | Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 | -4.42 | -4.40 | 0.0000 | 0.0000 | 11.14 |
| NM_173883.2 | TG | Thyroglobulin | -4.35 | -4.80 | 0.0000 | 0.0000 | 8.41 |

Tabla 17 Proteínas únicas identificadas como secretadas y del espacio extracelular del endometrio de vaca.

| Número de acceso | Símbolo | Nombre | FC*(log2) U_cr/O_a | FC* (log2) U_cr/O_i | P-valor U_cr/O_a | P-valor U_cr/O_i | Media de señal |
|--------------------|----------|--|-----------------------|------------------------|---------------------|------------------|-------------------|
| NM_001076831.1 | COL3A1 | Collagen, type III, alpha 1 | 10.81 | 10.23 | 0.0000 | 0.0000 | 7.99 |
| NM_001101239.1 | GRP | Gastrin-releasing peptide | 9.34 | 5.29 | 0.0000 | 0.0000 | 11.10 |
| NM_174520.2 | COL1A2 | Collagen, type I, alpha 2 | 9.22 | 9.05 | 0.0000 | 0.0000 | 7.11 |
| NM_001143865.1 | COL6A1 | Collagen, type VI, alpha 1 | 9.10 | 8.46 | 0.0000 | 0.0000 | 9.82 |
| NM_205786.1 | PTI | Spleen trypsin inhibitor | 8.71 | 7.94 | 0.0000 | 0.0000 | 6.35 |
| XM_597117.5 | LAMC3 | Laminin, gamma 3 | 7.88 | 7.95 | 0.0000 | 0.0000 | 6.38 |
| NM_001080358.1 | TDGF1 | Teratocarcinoma-derived growth factor 1 | 7.87 | 7.50 | 0.0000 | 0.0000 | 7.77 |
| NM_173934.1 | LUM | Lumican | 7.81 | 7.79 | 0.0000 | 0.0000 | 6.05 |
| XM_003584958.1 | HTRA3 | Htra serine peptidase 3 | 7.76 | 7.36 | 0.0000 | 0.0000 | 7.01 |
| NM_001099053.1 | LOXL2 | Lysyl oxidase-like 2 | 7.69 | 7.26 | 0.0000 | 0.0000 | 6.26 |
| NM_001166511.1 | COL4A1 | Collagen, type IV, alpha 1 | 7.64 | 7.04 | 0.0000 | 0.0000 | 8.16 |
| NM_001098134.1 | SMOC2 | SPARC related modular calcium binding 2 | 7.63 | 6.91 | 0.0000 | 0.0000 | 9.38 |
| ENSBTAT00000008743 | PIP | Prolactin-induced protein | 7.36 | 6.32 | 0.0000 | 0.0000 | 7.20 |
| NM_001100299.1 | CRISPLD2 | Cysteine-rich secretory protein LCCL domain containing 2 | 7.13 | 7.56 | 0.0000 | 0.0000 | 8.20 |
| NM_173950.2 | PGF | Placental growth factor | 7.09 | 6.78 | 0.0000 | 0.0000 | 5.30 |
| NM_001163778.1 | FN1 | Fibronectin 1 | 7.06 | 6.21 | 0.0000 | 0.0000 | 7.83 |
| NM_174140.3 | SERPINF1 | Serpin peptidase inhibitor, clade F (alpha-2 antiplasmin, pigment epithelium derived factor), member 1 | 7.05 | 6.51 | 0.0000 | 0.0000 | 7.79 |
| NM_001034227.1 | MPTX | Putative mucosal pentraxin homolog | 6.96 | 5.99 | 0.0000 | 0.0000 | 6.42 |
| NM_001078026.1 | TNC | Tenascin C | 6.91 | 7.19 | 0.0000 | 0.0000 | 5.93 |
| XM_002688974.1 | FBN2 | Fibrillin 2 | 6.91 | 5.00 | 0.0000 | 0.0000 | 6.04 |
| NM_001143869.1 | EMILIN2 | Elastin microfibril interfacer 2 | 6.90 | 7.14 | 0.0000 | 0.0000 | 7.46 |

| | | | | | | | |
|----------------|----------|---|------|------|--------|--------|-------|
| NM_174460.2 | SFRP1 | Secreted frizzled-related protein 1 | 6.78 | 7.00 | 0.0000 | 0.0000 | 7.33 |
| NM_174141.2 | PENK | Proenkephalin | 6.77 | 6.47 | 0.0000 | 0.0000 | 5.48 |
| NM_174669.2 | SERPINE2 | Serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 2 | 6.73 | 5.86 | 0.0000 | 0.0000 | 7.05 |
| NM_174707.2 | MGP | Matrix Gla protein | 6.70 | 6.13 | 0.0001 | 0.0002 | 11.72 |
| NM_001101979.1 | EDN3 | Endothelin 3 | 6.66 | 6.37 | 0.0000 | 0.0000 | 5.61 |
| NM_001013001.1 | WNT2 | Wingless-type MMTV integration site family member 2 | 6.50 | 6.72 | 0.0000 | 0.0000 | 6.37 |
| NM_174087.3 | IGF2 | Insulin-like growth factor 2 (somatomedin A) | 6.46 | 6.32 | 0.0000 | 0.0000 | 10.19 |
| NM_173903.3 | CPE | Carboxypeptidase E | 6.42 | 4.37 | 0.0000 | 0.0000 | 7.54 |
| XM_002686570.2 | COL6A3 | Collagen, type VI, alpha 3 | 6.42 | 6.01 | 0.0000 | 0.0000 | 9.72 |
| NM_001015642.2 | CPXM1 | Carboxypeptidase X (M14 family), member 1 | 6.33 | 6.40 | 0.0000 | 0.0000 | 5.90 |
| NM_174388.2 | MFAP2 | Microfibrillar-associated protein 2 | 6.32 | 6.18 | 0.0000 | 0.0000 | 8.75 |
| NM_001014845.2 | NPY | Neuropeptide Y | 6.28 | 5.93 | 0.0000 | 0.0000 | 5.41 |
| NM_174183.2 | SELP | Selectin P (granule membrane protein 140kda, antigen CD62) | 6.25 | 5.79 | 0.0000 | 0.0000 | 5.45 |
| XM_002685618.1 | COL16A1 | Collagen, type XVI, alpha 1 | 6.23 | 6.37 | 0.0000 | 0.0000 | 8.80 |
| NM_001076301.1 | APOD | Apolipoprotein D | 6.18 | 6.43 | 0.0000 | 0.0000 | 6.71 |
| NM_001101044.2 | PLBD1 | Phospholipase B domain containing 1 | 6.01 | 6.25 | 0.0000 | 0.0000 | 7.26 |
| NM_001075126.1 | COL6A2 | Collagen, type VI, alpha 2 | 6.00 | 5.91 | 0.0000 | 0.0000 | 6.02 |
| XM_005206031.1 | SYT1 | DKFZP459P193 protein-like | 6.00 | 5.72 | 0.0000 | 0.0000 | 4.96 |
| XM_002692011.1 | COL4A2 | Collagen, type IV, alpha 2 | 5.94 | 5.59 | 0.0000 | 0.0000 | 8.66 |
| NM_001015590.2 | ITIH4 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain family, member 4 | 5.94 | 6.11 | 0.0000 | 0.0000 | 6.75 |
| NM_174118.2 | MYOC | Myocilin, trabecular meshwork inducible glucocorticoid response | 5.80 | 5.72 | 0.0000 | 0.0000 | 7.11 |
| NM_181667.1 | ADAMTS4 | ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 4 | 5.79 | 5.41 | 0.0000 | 0.0000 | 5.01 |

| | | | | | | | |
|----------------|----------|---|------|------|--------|--------|------|
| NM_001205320.1 | OLFM2 | Olfactomedin 2 | 5.77 | 5.70 | 0.0000 | 0.0000 | 5.05 |
| NM_001102065.1 | NID2 | Nidogen 2 (osteonidogen) | 5.76 | 5.64 | 0.0000 | 0.0000 | 6.62 |
| XM_003588045.3 | CD248 | CD248 molecule, endosialin | 5.71 | 5.88 | 0.0000 | 0.0000 | 6.09 |
| NM_001098982.1 | CCDC80 | Coiled-coil domain containing 80 | 5.70 | 5.09 | 0.0000 | 0.0000 | 9.41 |
| NM_174703.2 | TNXB | Tenascin XB | 5.70 | 5.61 | 0.0000 | 0.0000 | 7.53 |
| NM_001012519.1 | AKR1B1 | Aldo-keto reductase family 1, member B1 (aldose reductase) | 5.69 | 4.67 | 0.0000 | 0.0000 | 6.26 |
| XM_592756.4 | FNDC1 | Fibronectin type III domain containing 1 | 5.66 | 5.06 | 0.0000 | 0.0000 | 8.58 |
| NM_001075983.1 | MMP19 | Matrix metalloproteinase 19 | 5.66 | 5.80 | 0.0000 | 0.0000 | 7.06 |
| NM_001101165.1 | CRISPLD1 | Cysteine-rich secretory protein LCCL domain containing 1 | 5.58 | 5.29 | 0.0000 | 0.0000 | 4.83 |
| NM_001076201.2 | C1QTNF7 | C1q and tumor necrosis factor related protein 7 | 5.55 | 5.58 | 0.0000 | 0.0000 | 5.67 |
| NM_001075197.1 | OLFML3 | Olfactomedin-like 3 | 5.45 | 5.58 | 0.0000 | 0.0000 | 9.32 |
| NM_173888.3 | ADM | Adrenomedullin | 5.41 | 5.29 | 0.0000 | 0.0000 | 7.85 |
| NM_001076550.1 | C1S | Complement component 1, s subcomponent | 5.40 | 6.06 | 0.0000 | 0.0000 | 8.72 |
| NM_001035385.2 | OLFML1 | Olfactomedin-like 1 | 5.30 | 5.19 | 0.0000 | 0.0000 | 5.43 |
| NM_001075879.1 | CHST9 | Carbohydrate (N-acetylgalactosamine 4-O) sulfotransferase 9 | 5.29 | 5.15 | 0.0000 | 0.0000 | 5.29 |
| NM_001076049.1 | EFEMP2 | EGF containing fibulin-like extracellular matrix protein 2 | 5.27 | 5.47 | 0.0000 | 0.0000 | 6.17 |
| XM_002696468.1 | NKD2 | Naked cuticle homolog 2 (Drosophila) | 5.20 | 5.30 | 0.0000 | 0.0000 | 8.40 |
| NM_001102382.1 | NOV | Nephroblastoma overexpressed gene | 5.20 | 6.43 | 0.0000 | 0.0000 | 6.90 |
| XM_001787671.3 | COL9A3 | Collagen, type IX, alpha 3 | 5.13 | 5.10 | 0.0000 | 0.0000 | 5.04 |
| NM_001001156.1 | ADAM12 | ADAM metalloproteinase domain 12 | 5.04 | 5.00 | 0.0000 | 0.0000 | 5.86 |
| NM_173946.2 | OGN | Osteoglycin | 5.04 | 5.03 | 0.0000 | 0.0000 | 5.59 |
| NM_001098029.1 | FBLN1 | Fibulin 1 | 5.03 | 4.67 | 0.0000 | 0.0000 | 9.90 |
| NM_001034309.1 | ASPN | Asporin | 5.03 | 5.00 | 0.0000 | 0.0000 | 5.46 |

| | | | | | | | |
|----------------|----------|--|------|------|--------|--------|-------|
| NM_001034407.1 | C1R | Complement component 1, r subcomponent | 5.02 | 5.60 | 0.0000 | 0.0000 | 7.99 |
| NM_001205624.1 | COL5A3 | Collagen, type V, alpha 3 | 4.92 | 5.11 | 0.0000 | 0.0000 | 5.80 |
| XM_003585388.1 | COL4A4 | Collagen, type IV, alpha 4 | 4.90 | 4.78 | 0.0000 | 0.0000 | 5.20 |
| NM_001014946.1 | FBLN5 | Fibulin 5 | 4.85 | 4.60 | 0.0000 | 0.0000 | 7.24 |
| NM_001078150.2 | LRRC17 | Leucine rich repeat containing 17 | 4.84 | 5.30 | 0.0000 | 0.0000 | 6.98 |
| XM_001787662.3 | CTHRC1 | Collagen triple helix repeat containing 1 | 4.83 | 4.56 | 0.0000 | 0.0000 | 4.61 |
| NM_175801.2 | FST | Follistatin | 4.77 | 4.99 | 0.0000 | 0.0000 | 7.31 |
| NM_174557.3 | IGFBP4 | Insulin-like growth factor binding protein 4 | 4.74 | 4.12 | 0.0000 | 0.0000 | 7.97 |
| NM_001206114.1 | ADAMTS19 | ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 19 | 4.72 | 4.68 | 0.0000 | 0.0000 | 5.08 |
| XM_001254148.3 | FSTL1 | Follistatin-like 1 | 4.72 | 4.90 | 0.0000 | 0.0000 | 10.08 |
| NM_181010.2 | EDN1 | Endothelin 1 | 4.70 | 4.41 | 0.0000 | 0.0000 | 4.75 |
| NM_001206519.1 | LAMB1 | Laminin, beta 1 | 4.68 | 4.96 | 0.0000 | 0.0000 | 8.90 |
| NM_001101176.1 | COL8A1 | Collagen, type VIII, alpha 1 | 4.63 | 4.20 | 0.0000 | 0.0000 | 4.62 |
| NM_001102528.1 | MATN2 | Matrilin 2 | 4.59 | 4.56 | 0.0000 | 0.0000 | 6.33 |
| NM_001101180.1 | APOLD1 | Apolipoprotein L domain containing 1 | 4.54 | 4.62 | 0.0000 | 0.0000 | 6.94 |
| NM_001191132.2 | FLT1 | Fms-related tyrosine kinase 1 (vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor receptor) | 4.52 | 4.17 | 0.0000 | 0.0000 | 6.01 |
| NM_001113174.1 | CXCL12 | Chemokine (C-X-C motif) ligand 12 | 4.51 | 4.25 | 0.0000 | 0.0000 | 5.29 |
| XM_003587266.1 | LTBP4 | Latent-transforming growth factor beta-binding protein 4-like | 4.47 | 4.48 | 0.0000 | 0.0000 | 8.89 |
| NM_174464.2 | SPARC | Secreted protein, acidic, cysteine-rich (osteonectin) | 4.46 | 4.50 | 0.0001 | 0.0001 | 9.96 |
| NM_176608.1 | GHR | Growth hormone receptor | 4.45 | 4.64 | 0.0000 | 0.0000 | 6.15 |
| NM_001080307.1 | ABI3BP | ABI family, member 3 (NESH) binding protein | 4.45 | 4.02 | 0.0000 | 0.0000 | 6.06 |
| NM_001046585.1 | CCL14 | Chemokine (C-C motif) ligand 14 | 4.42 | 4.40 | 0.0000 | 0.0000 | 5.20 |
| XM_581642.5 | WFDC1 | WAP four-disulfide core domain 1 | 4.40 | 4.94 | 0.0000 | 0.0000 | 9.29 |

| | | | | | | | |
|----------------|-----------|--|------|------|--------|--------|-------|
| NM_001206785.1 | IGSF10 | Immunoglobulin superfamily, member 10 | 4.31 | 4.36 | 0.0000 | 0.0000 | 4.82 |
| NM_001167894.1 | F13A1 | Coagulation factor XIII, A1 polypeptide | 4.28 | 4.38 | 0.0000 | 0.0000 | 5.69 |
| NM_001098056.1 | TNFRSF11B | Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11b | 4.23 | 4.05 | 0.0000 | 0.0000 | 4.97 |
| NM_001046616.1 | HSD17B13 | Hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 13 | 4.23 | 4.94 | 0.0000 | 0.0000 | 6.51 |
| NM_173991.2 | APOE | Apolipoprotein E | 4.21 | 4.86 | 0.0000 | 0.0000 | 7.65 |
| NM_001034220.2 | LOC504773 | Regakine 1 | 4.18 | 4.48 | 0.0000 | 0.0000 | 5.54 |
| NM_001035457.3 | PRSS35 | Protease, serine, 35 | 4.16 | 4.13 | 0.0000 | 0.0000 | 6.58 |
| NM_174745.2 | MMP2 | Matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A, 72kda gelatinase, 72kda type IV collagenase) | 4.15 | 4.10 | 0.0000 | 0.0000 | 7.22 |
| NM_001077828.1 | IGF1 | Insulin-like growth factor 1 (somatomedin C) | 4.09 | 4.09 | 0.0000 | 0.0000 | 4.70 |
| XM_002702778.2 | COL7A1 | Collagen, type VII, alpha 1 | 4.08 | 4.52 | 0.0000 | 0.0000 | 10.35 |
| NM_001192742.1 | PI15 | Peptidase inhibitor 15 | 4.06 | 4.10 | 0.0000 | 0.0000 | 4.86 |
| NM_174743.2 | SPON1 | Spondin 1, extracellular matrix protein | 4.01 | 4.11 | 0.0000 | 0.0000 | 9.31 |

5.1.2.- Análisis proteómico de fluido oviductal y uterino en la especie bovina

El análisis proteómico del contenido de los fluidos oviductales y uterinos de la vaca se hizo a partir de la identificación de "spots" de geles en 2D. Como se menciona en los materiales y métodos, los geles fueron de dos tipos; por un lado los geles que contenían sólo una de las muestras, ya sea fluido uterino o fluido oviductal y por otro los geles en 2D diferenciales (DiGE) que contenían ambas muestras. En ambos casos estos "spots" fueron recortados para su identificación por espectrometría de masas. A continuación se detallarán los resultados obtenidos por cada una de estas técnicas.

5.3.1.2.- Análisis por electroforesis

5.3.1.2.1.- Electroforesis bidimensional (2D-PAGE)

A partir de los resultados obtenidos de estos geles pudimos observar como las proteínas migraban en un gel en 2D y así comprobar su distribución, de acuerdo a su peso molecular y punto isoeléctrico, esto para las muestras de fluido oviductal (Fig. 50) y fluido uterino (Fig. 51). En estos geles se resolvieron hasta 300 μg de proteínas, lo que nos permitió observar un mayor número de "spots" en comparación con los geles DiGE, que contenían sólo 150 μg de proteína. La comparativa entre geles teñidos con coomassie y los marcados con las sondas fluorescentes Cy2 (ambos con 300 μg) no mostraron diferencia en el número de "spots" detectados. Los geles elegidos para determinar la media de "spots" para cada tipo de muestra fueron los marcados con sonda fluorescente Cy2. Para el fluido oviductal ($n=4$) la media de "spots" detectados fue de 458 (Fig. 52a). Adicionalmente se realizó una representación gráfica en tres dimensiones para visualizar el volumen que representa cada "spot" en la muestra total (Fig. 52b). En esta figura tridimensional destaca la alta aportación de la proteína albúmina sérica bovina (ALB), que representa en el fluido oviductal más del 21% del total de proteína.

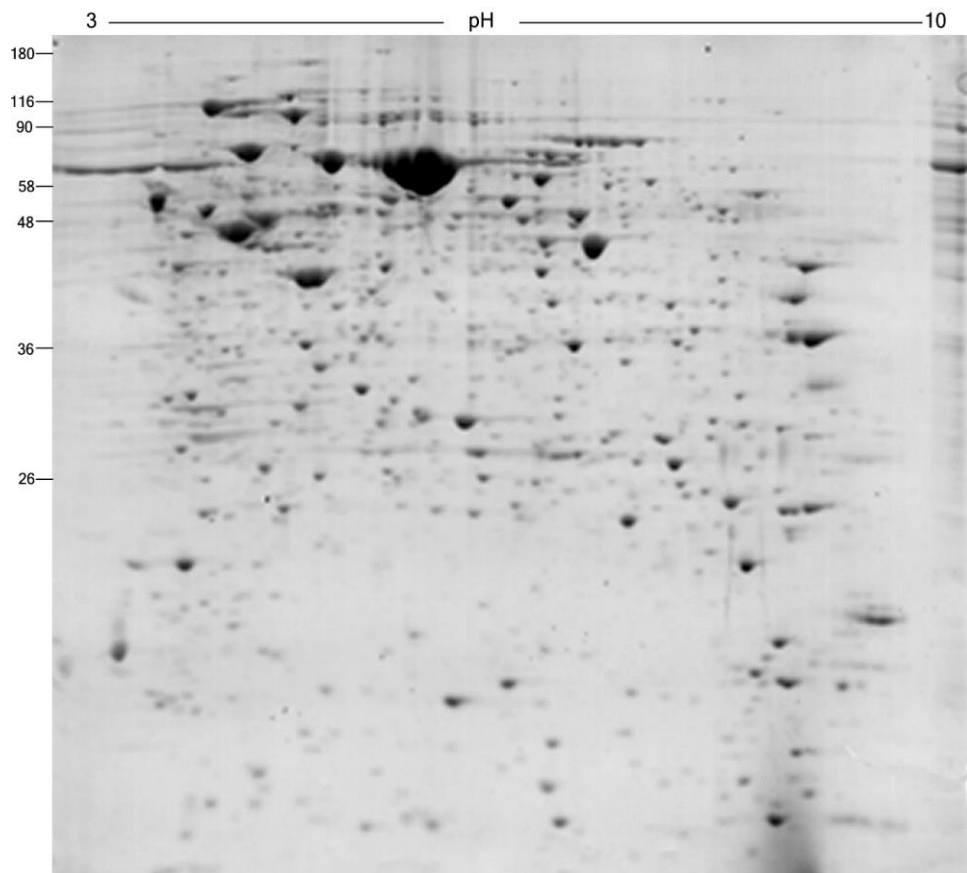


Figura 50 Electroforesis en 2D de FOB en fase periovulatoria. Resolución de 300 μ g de FOB en maxigel con tiras reactiva de gradiente no lineal de pH (3-10), teñido con azul de coomassie.

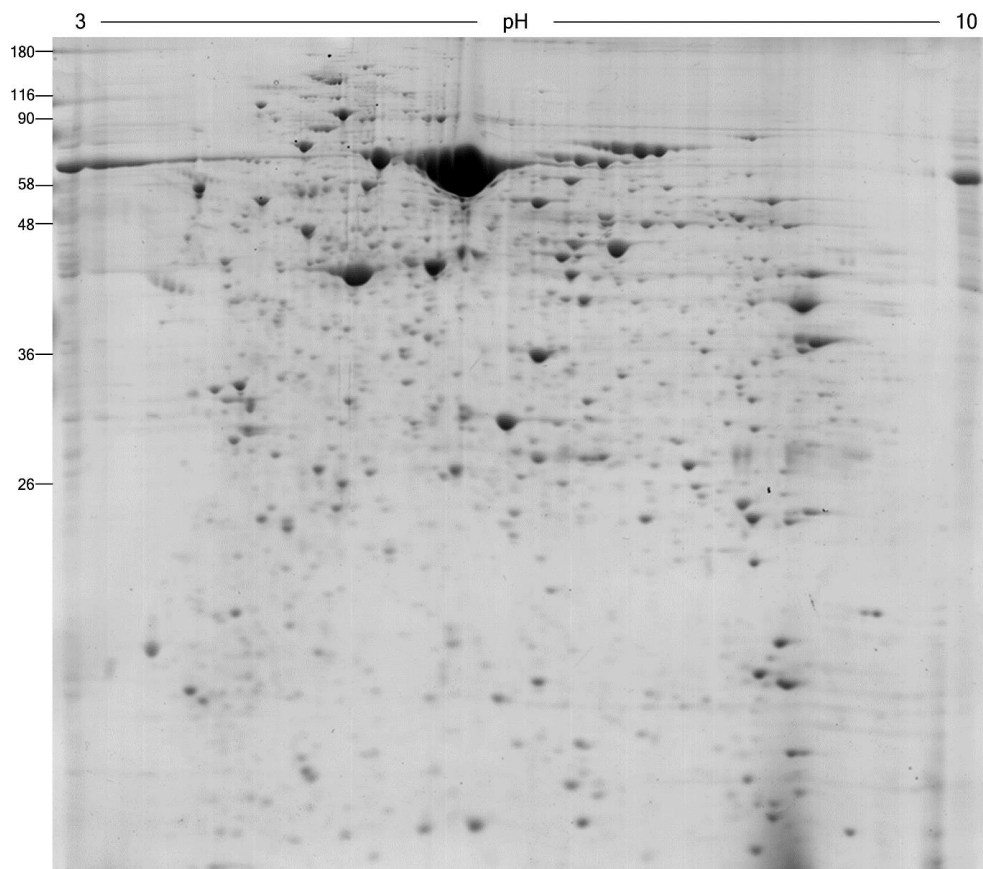


Figura 51 Electroforesis en 2D de FUB en fase periovulatoria. Resolución de 300 μ g de FUB en maxigel con tiras reactiva de gradiente no lineal de pH (3-10), teñido con azul de coomassie.

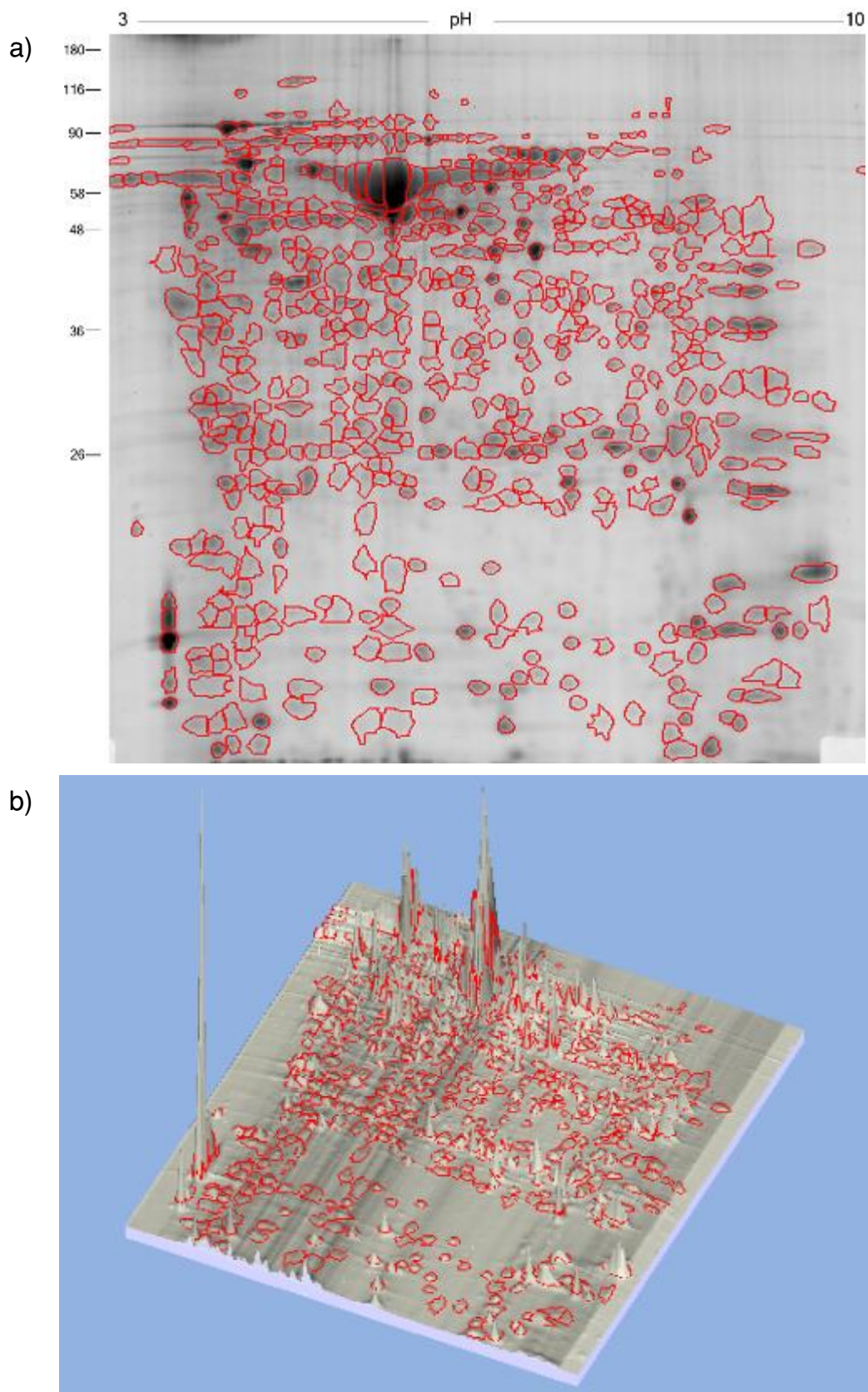


Figura 52 Electroforesis en 2D de FOB en fase periovulatoria marcado con sonda fluorescente Cy2. Resolución de 300 μ g de FOB en maxigel, con tiras de gradiente no lineal de pH (3-10). Imagen obtenida del escaneo con Thypoon (a). Representación esquemática 3D, "spots" detectados con el software ImageMaster 2D Platinum 7.0 (b).

Para las muestras de fluido uterino ($n=3$) la media de "spots" identificados fue de 242 (Fig. 53a) también para esta muestra se realizó la imagen tridimensional (Fig. 53b).

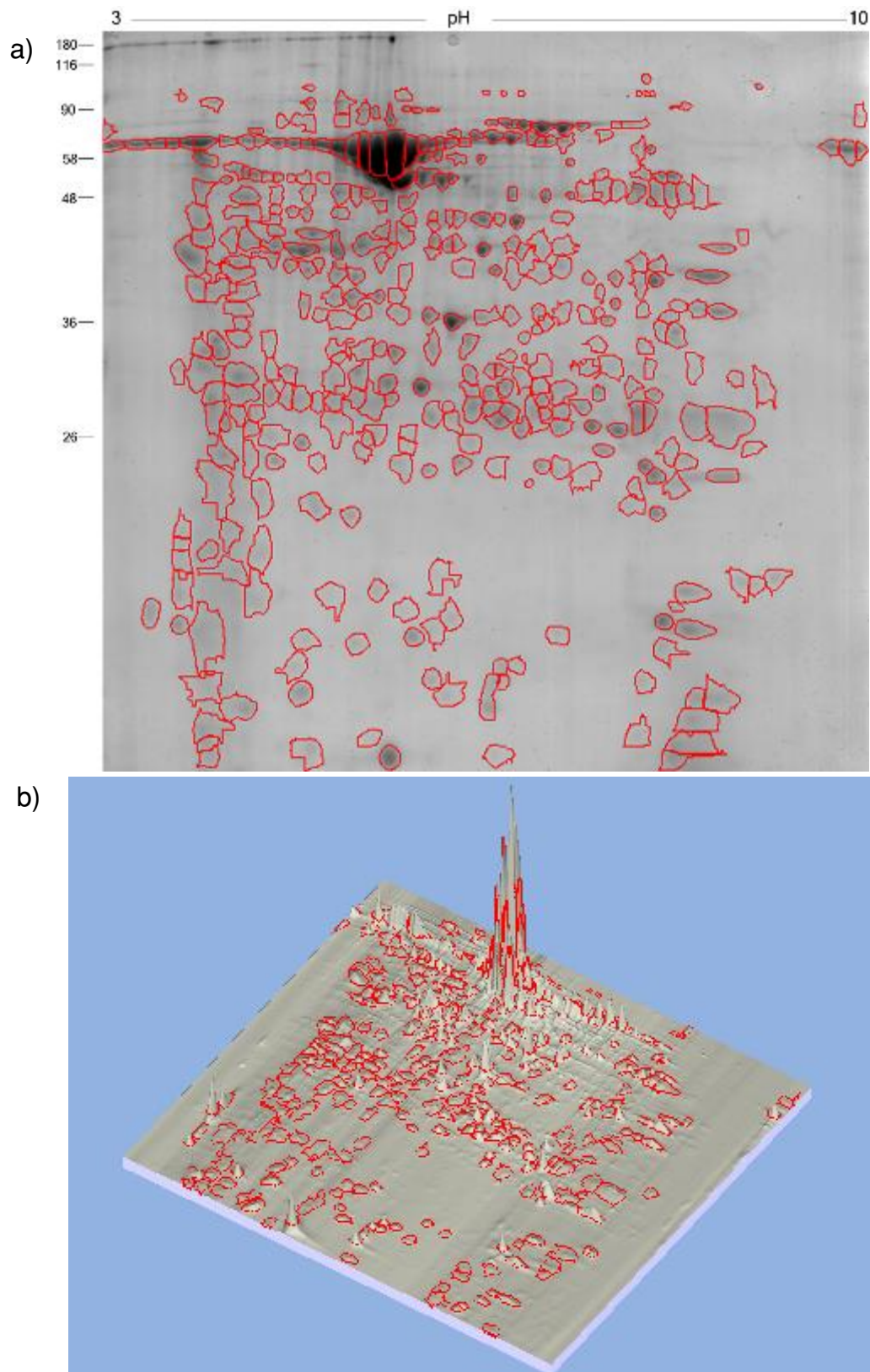


Figura 53 Electroforesis en 2D de FUB en fase periovulatoria marcado con sonda fluorescente Cy2. Resolución de $300 \mu\text{g}$ de FUB en maxigel, con tiras de gradiente no lineal de pH (3-10). Imagen obtenida del escaneo con Thyphoon (a). Representación esquemática 3D, "spots" detectados con el software ImageMaster 2D Platinum 7.0 (b).

La ALB en el fluido uterino representa más del 42% en el volumen total de proteína contenida en este fluido.

Uno de los primeros criterios para la selección de "spots" a identificar por proteómica fue la abundancia. Que fue determinado mediante el análisis de imagen con el software ImageMaster Platinum 7.2. Estos "spots" fueron secuenciados e identificados en el fluido oviductal (Fig. 54, Tabla 18) y uterino (Fig. 56, Tabla 19). Adicionalmente se elaboraron las redes de interacción por evidencia de las proteínas más abundantes en el fluido oviductal (Fig. 55) y uterino (Fig. 57).

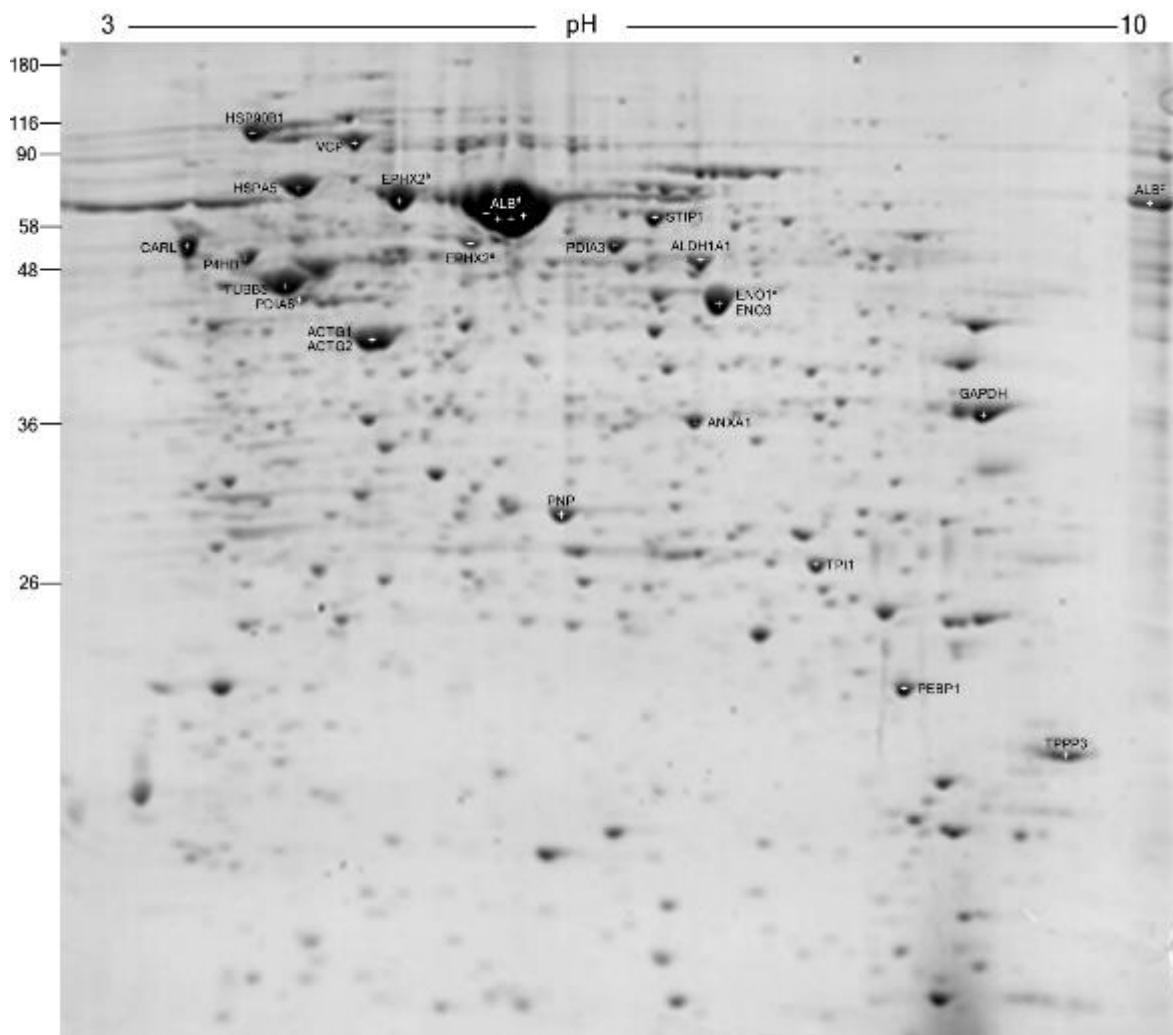


Figura 54 Proteínas más abundantes del fluido oviductal de la vaca. Electroforesis en 2D de FOB en fase periovulatoria. Resolución de 300 μ g de FOB en maxigel con tiras reactiva de gradiente no lineal de pH (3-10), teñido con azul de coomassie.

Tabla 18 Proteínas más abundantes del fluido oviductal de la especie bovina.

| Símbolo | Nombre | Acceso | Vol (%) |
|-------------------|--|--------|-----------|
| ALB ^d | Serum albumin | P02769 | 21.131538 |
| ENO1 ^a | Alpha-enolase | Q9XSJ4 | 1.729888 |
| ENO3 | Beta-enolase | Q3ZC09 | 1.729888 |
| TPPP3 | Tubulin polymerization-promoting protein family member 3 | Q3ZCC8 | 1.534906 |
| HSPA5 | 78 kda glucose-regulated protein | Q0VCX2 | 1.431596 |
| HSP90B1 | Endoplasmin | Q95M18 | 1.181098 |
| GAPDH | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | P10096 | 0.905705 |
| ACTG1 | Actin, cytoplasmic 2 | P63258 | 0.883473 |
| ACTG2 | Actin, gamma-enteric smooth muscle | Q5E9B5 | 0.883473 |
| TUBB5 | Tubulin beta-5 chain | Q2KJD0 | 0.882556 |
| PDIA3 | Protein disulfide-isomerase A3 | P38657 | 0.715439 |
| EPHX2 | Epoxide hydrolase 2 | Q17QK4 | 0.639033 |
| CALR | Calreticulin | P52193 | 0.629642 |
| TPI1 | Triosephosphate isomerase | Q5E956 | 0.567540 |
| PEBP1 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | P13696 | 0.507784 |
| PDIA6 | Protein disulfide-isomerase A6 precursor | A6QNL5 | 0.447726 |
| STIP1 | Stress-induced-phosphoprotein 1 | Q3ZBZ8 | 0.435986 |
| P4HB | Protein disulfide-isomerase | P05307 | 0.415748 |

Las letras en superíndice indican diferentes "spots" de la misma proteína.

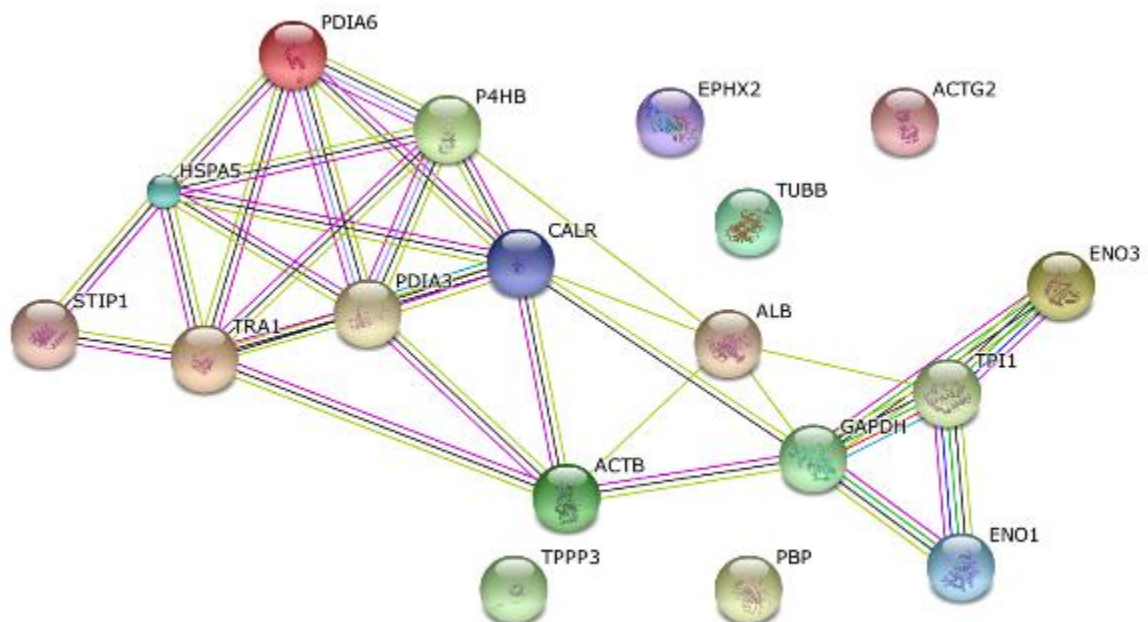


Figura 55 Red de interacción por evidencia de las proteínas más abundantes del FOB en fase periovulatoria, donde se detectaron hasta 32 interacciones. Este gráfico se elaborado con la herramienta bioinformática STRING 9.1 (Franceschini et al., 2013).

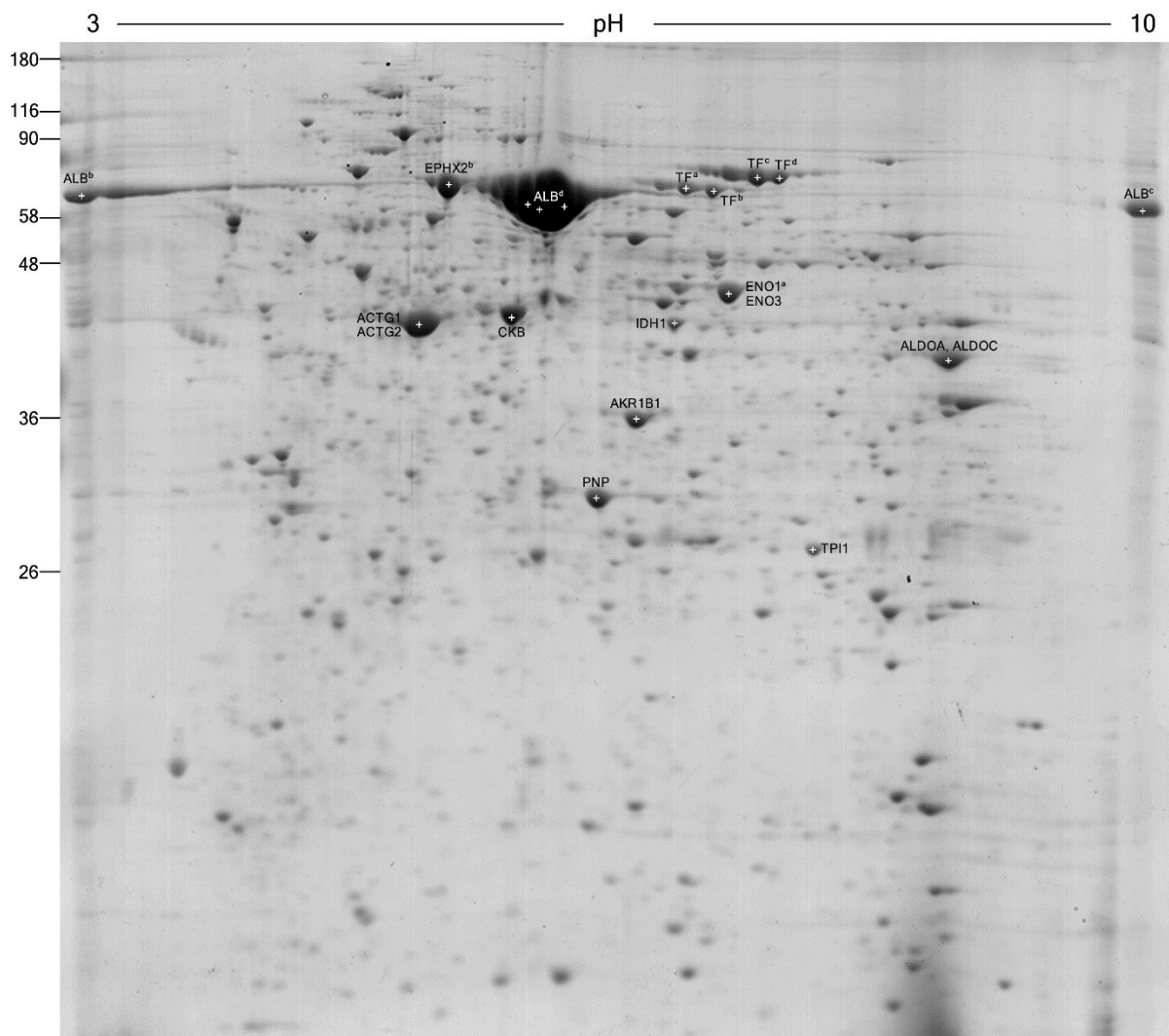


Figura 56 Proteínas más abundantes del fluido oviductal de la vaca. Electroforesis en 2D de FUB es fase periovulatoria. Resolución de 300 μ g de FUB en maxigel con tiras reactiva de gradiente no lineal de pH (3-10), teñido con azul de coomassie.

Tabla 19 Proteínas más abundantes de fluido uterino de la especie bovina.

| Símbolo | Nombre | Acceso | Vol (%) |
|------------------|---|--------|-----------|
| ALB ^d | Serum albumin | P02769 | 42.840677 |
| AKR1B1 | Aldose reductase | P16116 | 1.272226 |
| ACTG1 | Actin, cytoplasmic 2 | P63258 | 0.947259 |
| ACTG2 | Actin, gamma-enteric smooth muscle | Q5E9B5 | 0.947259 |
| TF ^c | Serotransferrin precursor | Q29443 | 0.789324 |
| TF ^a | Serotransferrin precursor | Q29443 | 0.700539 |
| IDH1 | Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic | Q9XSG3 | 0.649181 |
| TF ^d | Serotransferrin precursor | Q29443 | 0.630819 |
| TF ^b | Serotransferrin precursor | Q29443 | 0.625038 |
| ALB ^b | Serum albumin | P02769 | 0.567432 |
| ALDOA | Fructose-bisphosphate aldolase A | A6QLL8 | 0.504118 |
| ALDOC | Fructose-bisphosphate aldolase C | Q3ZBY4 | 0.504118 |

| | | | |
|-------------------|---------------------------------|--------|----------|
| ENO1 ^a | Alpha-enolase | Q9XSJ4 | 0.438016 |
| ENO3 | Beta-enolase | Q3ZC09 | 0.438016 |
| ALB ^c | Serum albumin | P02769 | 0.407473 |
| TPI1 | Triosephosphate isomerase | Q5E956 | 0.364798 |
| PNP | Purine nucleoside phosphorylase | P55859 | 0.363296 |
| CKB | Creatine kinase B-type | Q5EA61 | 0.315712 |

Las letras en superíndice indican diferentes "spots" de la misma proteína.

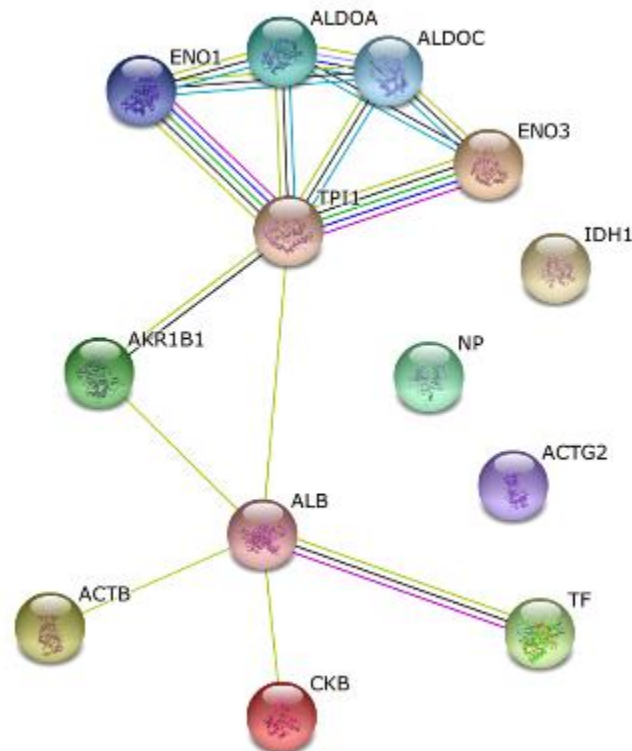


Figura 57 Red de interacción por evidencia de las proteínas más abundantes del FUB en fase periovulatoria, donde se detectaron hasta 15 interacciones. Este grafico se elaborado con la herramienta bioinformática STRING 9.1 (Franceschini et al., 2013).

5.1.1.2.2.- Electroforesis bidimensional diferencial en gel (DiGE)

Los geles en 2D diferenciales nos permitieron observar las diferencias que se encuentran entre los distintos tipos de muestras (Fig. 58). Nuestro estudio estuvo basado en la comparativa de FOB *versus* FUB (Fig. 59), FOB *versus* Suero (Fig. 60) y FUB *versus* Suero (Fig. 61). Una vez analizados los geles por triplicado fueron seleccionados los "spots" que mostraban una diferencia por arriba de las 2 veces entre las muestras de fluido oviductal (Tabla. 20) y uterino (Tabla 21).

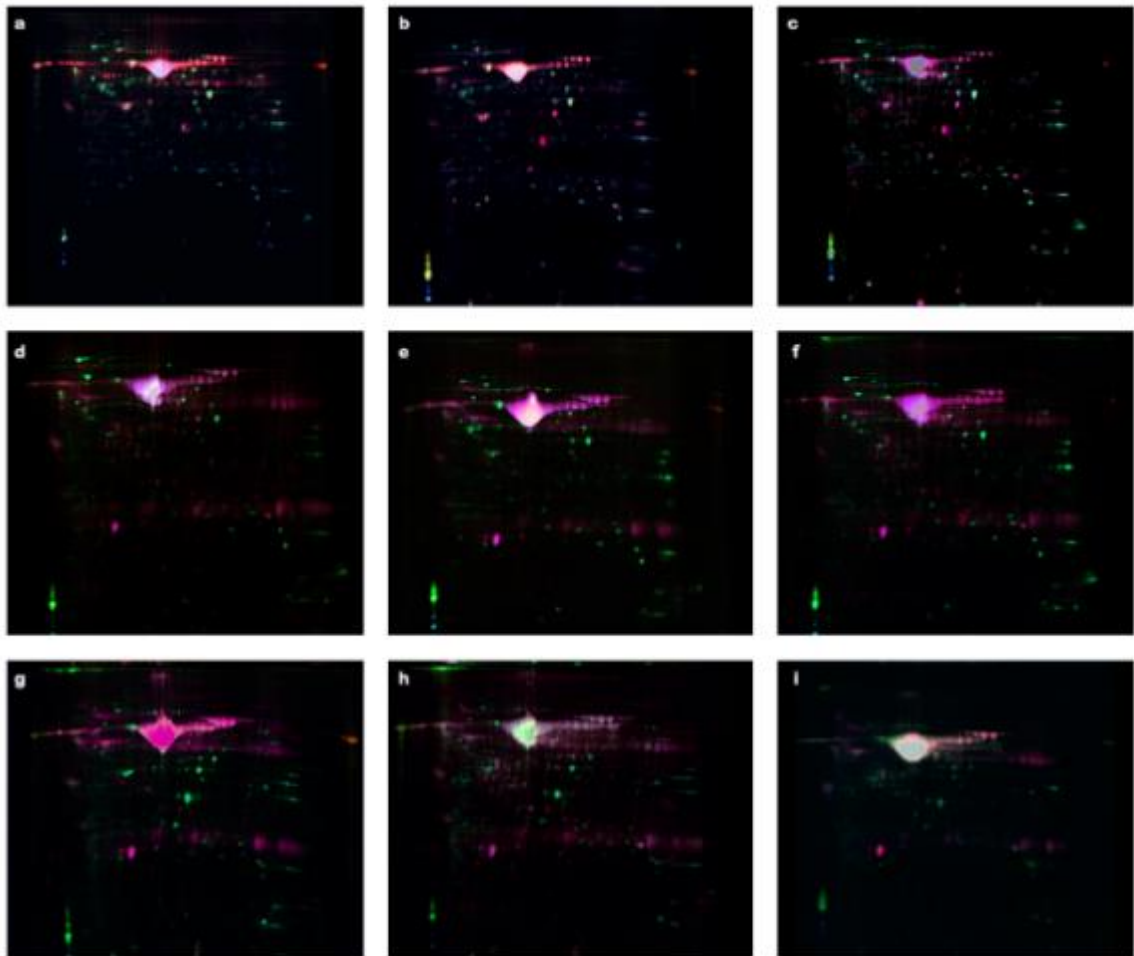


Figura 58 Electroforesis en 2D diferencial (DiGE) de FOB, FUB y SSB en fase periovulatoria. Comparativa entre FOB (verde) y FUB (rojo) y la mezcla (azul) imágenes a, b y c. Comparativa entre FOB (verde) y SSB (rojo) y la mezcla (azul) imágenes d, e y f. Comparativa entre FUB (verde) y SSB (rojo) y la mezcla (azul) imágenes g, h y i.

Tabla 20 Proteínas diferencialmente expresadas del oviducto bovino.

| Símbolo | Nombre de proteína | Acceso | Vol Ratio |
|--------------------|---|--------|-----------|
| TPPP3 | Tubulina miembro de la familia de proteínas que promueven la polimerización 3 | Q3ZCC8 | -421.86 |
| HSPA5 | Proteína regulada por glucosa de 78 kda | Q0VCX2 | -7.62 |
| ANXA8 | Anexina A8 | Q95L54 | -6.06 |
| HSP90B1 | Endoplasmina | Q95M18 | -5.50 |
| LZTFL1 | Proteína leucina zipper factor de transcripción como 1 | Q3ZBL4 | -4.46 |
| PDIA6 | Proteína disulfuro isomerasa-A6 precursor | A6QNL5 | -2.95 |
| PRDX6 ^b | Peroxiredoxin-6 | O77834 | -2.91 |
| ANXA1 | Anexina A1 | P46193 | -2.41 |
| TUBB5 | Tubulina beta-5 chain | Q2KJD0 | -2.20 |
| P4HB | Proteína disulfuro isomerasa- | P05307 | -2.11 |
| PDIA3 | Proteína disulfuro isomerasa-A3 | P38657 | -2.05 |

Las letras en superíndice indican diferentes "spots" de la misma proteína

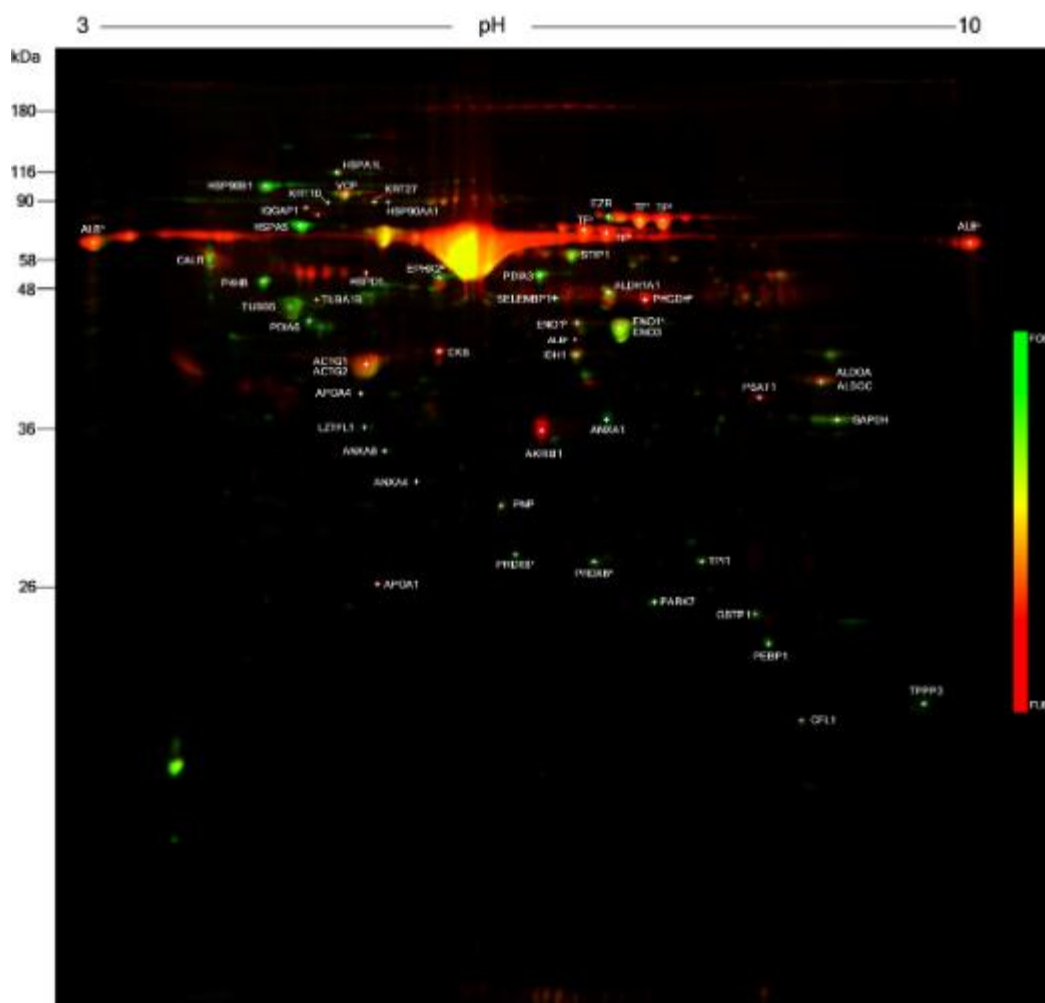


Figura 59 Electroforesis en 2D diferencial (DiGE) de FOB y FUB en fase periovulatoria. Se observan sólo las muestras marcadas con Cy3 (verde) y Cy5 (rojo). En verde los "spots" mayormente expresados en el FOB, en rojo los mayormente expresados en FUB y en amarillo

Tabla 21 Proteínas diferencialmente expresadas del útero bovino.

| Símbolo | Nombre de proteína | Acceso | Vol Ratio |
|--------------------|---|--------|-----------|
| AKR1B1 | Aldosa reductasa | P16116 | 59.73 |
| IQGAP1 | Proteína IQGAP1 | P46940 | 41.85 |
| PSAT1 | Phosphoserine aminotransferasa | PSAT1 | 29.00 |
| PHGDH ^b | D-3-fosfoglicerato deshidrogenasa | Q5EAD2 | 16.20 |
| TF ^d | Serotransferrin precursor | Q29443 | 13.30 |
| PHGDH ^a | D-3-fosfoglicerato deshidrogenasa | Q5EAD2 | 12.92 |
| TF ^b | Serotransferrin precursor | Q29443 | 12.17 |
| TF ^c | Serotransferrin precursor | Q29443 | 9.26 |
| TF ^a | Serotransferrin precursor | Q29443 | 8.23 |
| CKB | Creatina quinasa de tipo B | Q5EA61 | 6.61 |
| HSPD1 | Proteína de choque térmico 60 kda, mitocondrial | P31081 | 5.03 |
| ACTG1 | Actina, citoplásmica 2 | P63258 | 2.91 |
| ACTG2 | Actina, del músculo liso-gamma entérico | Q5E9B5 | 2.83 |
| PEBP1 | Proteína de unión a fosfatidiletanolamina 1- | P13696 | 2.72 |

| | | | |
|----------|--------------------------------|--------|------|
| ALDOA | Fructosa bifosfato aldolasa A | A6QLL8 | 2.53 |
| ALDOC | Bisfosfato fructosa aldolasa C | Q3ZBY4 | 2.53 |
| SELENBP1 | Proteína 1 de unión Selenio | Q2KJ32 | 2.18 |

Las letras en superíndice indican diferentes "spots" de la misma proteína

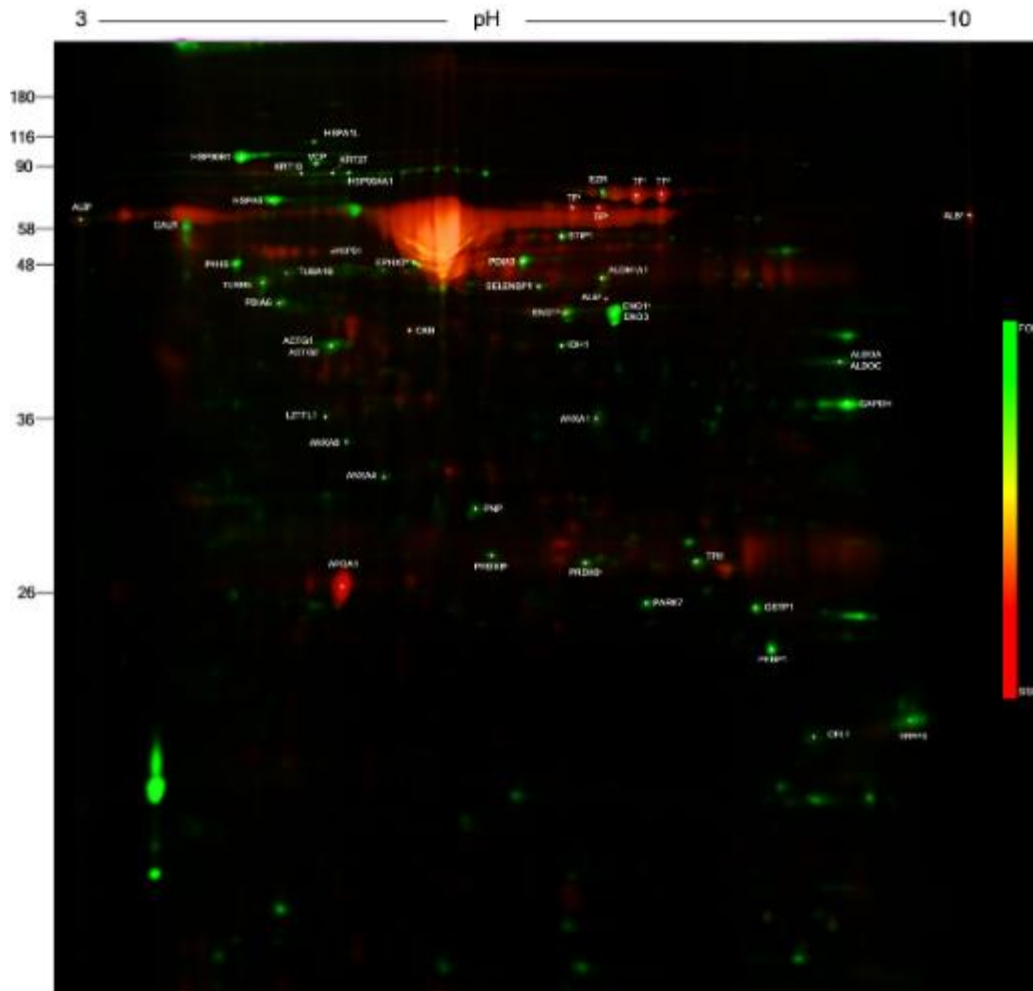


Figura 60 Electroforesis en 2D diferencial (DiGE) de FOB y SSB en fase periovulatoria. Se observan sólo las muestras marcadas con Cy3 (verde) y Cy5 (rojo). Proteínas identificadas por espectrometría de masas. En verde los "spots" mayormente expresados en el FOB, en rojo los mayormente expresados en SSB y en amarillo los comunes para ambas muestras

Una vez seleccionados los "spots" hasta un total de 52 fueron identificados, estos se correspondían a 47 proteínas diferentes (Tabla 22). Se observa que 2 proteínas son comunes para los tres tipos de muestras FOB, FUB y SSB, 29 de ellas son comunes al FOB y FUB. Ninguna de ellas fue común a FOB y SSB, 2 comunes a FUB y SSB. Nueve fueron únicas en FOB, cinco únicas para FUB y ninguna fue única para el SSB (Fig. 62).

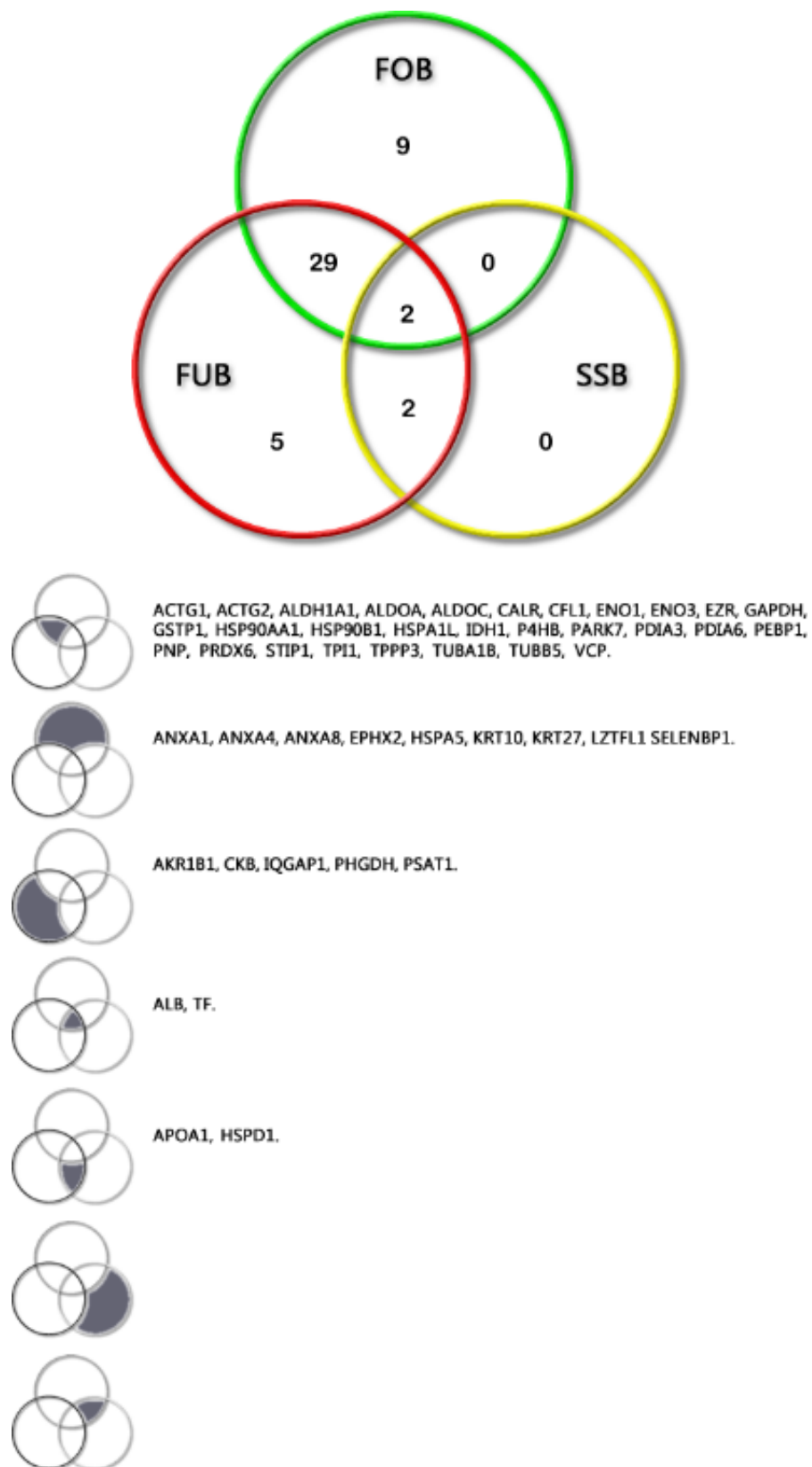


Figura 62 Diagrama de Venn de las proteínas identificadas por espectrometría de masas de fluido oviductal bovino (FOB), fluido uterino bovino (FUB) y suero sanguíneo bovino (SSB).

Tabla 22 Proteínas identificadas de FOB, FUB y SSB en fase periovulatoria.

| Símbolo | Nombre | Acceso | PM* (kDa) | Péptidos únicos | Núm. péptidos | Score | SPI | Cobertura (%) |
|--------------------|--|--------|--------------|--------------------|------------------|--------|-------|------------------|
| ACTG1 | Actin, cytoplasmic 2 | P63258 | 41.8 | 4 | 10 | 134.81 | 91.62 | 24.53 |
| ACTG2 | Actin, gamma-enteric smooth muscle | Q5E9B5 | 41.9 | 5 | 15 | 189.18 | 88.06 | 14.36 |
| AKR1B1 | Aldose reductase | P16116 | 35.9 | 8 | 25 | 299.60 | 87.11 | 34.92 |
| ALB ^a | Serum albumin | P02769 | 69.3 | 4 | 8 | 148.81 | 93.33 | 9.72 |
| ALB ^b | Serum albumin | P02769 | 69.3 | 5 | 16 | 131.37 | 89.39 | 10.05 |
| ALB ^c | Serum albumin | P02769 | 69.3 | 5 | 13 | 108.23 | 89.19 | 9.56 |
| ALDH1A1 | Retinal dehydrogenase 1 | P48644 | 54.8 | 3 | 3 | 44.66 | 93.17 | 12.00 |
| ALDOA | Fructose-bisphosphate aldolase A | A6QLL8 | 39.4 | 4 | 18 | 209.75 | 88.73 | 20.05 |
| ALDOC | Fructose-bisphosphate aldolase C | Q3ZBY4 | 39.4 | 2 | 2 | 17.36 | 79.05 | 9.34 |
| ANXA1 | Annexin A1 | P46193 | 39.0 | 3 | 11 | 139.12 | 93.63 | 16.47 |
| ANXA4 | Annexin A4 | P13214 | 35.9 | 2 | 2 | 24.55 | 96.95 | 9.00 |
| ANXA8 | Annexin A8 | Q95L54 | 36.8 | 4 | 9 | 141.35 | 96.38 | 25.99 |
| APOA1 | Apolipoprotein A-I | P15497 | 30.3 | 2 | 3 | 21.38 | 97.30 | 6.00 |
| CALR | Calreticulin | P52193 | 48.0 | 5 | 10 | 88.73 | 86.94 | 15.00 |
| CFL1 | Cofilin-1 | Q5E9F7 | 18.5 | 2 | 7 | 85.33 | 92.99 | 18.07 |
| CKB | Creatine kinase B-type | Q5EA61 | 42.7 | 5 | 7 | 69.73 | 91.31 | 17.85 |
| ENO1 ^a | Alpha-enolase | Q9XSJ4 | 47.3 | 6 | 18 | 199.35 | 89.02 | 25.35 |
| ENO1 ^b | Alpha-enolase | Q9XSJ5 | 47.3 | 6 | 13 | 106.85 | 92.58 | 15.00 |
| ENO3 | Beta-enolase | Q3ZC09 | 47.1 | 3 | 10 | 171.51 | 97.60 | 12.21 |
| EPHX2 ^a | Epoxide hydrolase 2 | Q17QK4 | 62.7 | 8 | 20 | 226.41 | 92.87 | 20.90 |
| EZR | Ezrin | P31976 | 68.8 | 5 | 11 | 80.45 | 91.35 | 8.00 |
| GAPDH | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | P10096 | 35.9 | 5 | 12 | 115.06 | 95.97 | 24.62 |
| GSTP1 | Glutathione S-transferase P | P28801 | 23.6 | 7 | 14 | 152.73 | 88.18 | 55.71 |
| HSP90AA1 | Heat shock protein HSP 90-alpha | Q76LV2 | 84.7 | 7 | 23 | 257.78 | 93.13 | 6.00 |

Las letras en superíndice indican diferentes "spots" de la misma proteína. *PM= peso molecular teórico de la proteína en base a su secuencia de aminoácidos.

Continuación...Tabla 22 Proteínas identificadas de FOB, FUB y SSB en fase periovulatoria.

| Símbolo | Nombre | Acceso | PM* (kDa) | Péptidos únicos | Núm. péptidos | Score | SPI | Cobertura (%) |
|--------------------|--|--------|--------------|--------------------|------------------|--------|-------|------------------|
| HSP90B1 | Endoplasmin | Q95M18 | 92.4 | 7 | 18 | 76.87 | 91.89 | 9.83 |
| HSPA1L | Heat shock 70 kDa protein 1-like | P34931 | 70.4 | 1 | 2 | 18.88 | 87.15 | 2.34 |
| HSPA5 | 78 kDa glucose-regulated protein | Q0VCX2 | 72.4 | 10 | 26 | 316.67 | 93.93 | 23.51 |
| HSPD1 | 60 kDa heat shock protein, mitochondrial | P31081 | 61.1 | 5 | 7 | 68.15 | 95.78 | 17.28 |
| IDH1 | Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic | Q9XSG3 | 46.8 | 11 | 29 | 360.23 | 89.57 | 36.00 |
| IQGAP1 | Protein IQGAP1 | P46940 | 182.8 | 5 | 14 | 164.85 | 94.60 | 5.38 |
| KRT10 | Keratin, type I cytoskeletal 10 | P06394 | 54.8 | 2 | 3 | 20.30 | 89.10 | 4.00 |
| KRT27 | Keratin, type I cytoskeletal 27 | Q0P5J6 | 49.9 | 2 | 2 | 31.58 | 92.53 | 4.78 |
| LZTFL1 | Leucine zipper transcription factor-like protein 1 | Q3ZBL4 | 34.6 | 3 | 12 | 194.62 | 91.33 | 15.05 |
| P4HB | Protein disulfide-isomerase | P05307 | 57.3 | 3 | 11 | 145.39 | 91.28 | 6.00 |
| PARK7 | Protein DJ-1 | Q5E946 | 20.0 | 6 | 11 | 59.45 | 95.58 | 42.00 |
| PDIA3 | Protein disulfide-isomerase A3 | P38657 | 56.9 | 1 | 2 | 25.96 | 88.80 | 5.15 |
| PDIA6 | Protein disulfide-isomerase A6 precursor | A6QNL5 | 48.1 | 3 | 4 | 45.34 | 83.05 | 11.48 |
| PEBP1 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | P13696 | 21.0 | 2 | 9 | 87.46 | 96.47 | 20.32 |
| PHGDH ^a | D-3-phosphoglycerate dehydrogenase | Q5EAD2 | 56.5 | 6 | 26 | 381.68 | 93.18 | 16.88 |
| PHGDH ^b | D-3-phosphoglycerate dehydrogenase | Q5EAD2 | 56.5 | 2 | 6 | 53.03 | 95.62 | 6.00 |
| PNP | Purine nucleoside phosphorylase | P55859 | 32.0 | 11 | 57 | 781.70 | 87.90 | 48.78 |
| PRDX6 ^a | Peroxiredoxin-6 | O77834 | 25.1 | 4 | 8 | 46.80 | 88.28 | 20.54 |
| PRDX6 ^b | Peroxiredoxin-6 | O77834 | 25.1 | 4 | 6 | 67.27 | 89.03 | 22.32 |
| PSAT1 | Phosphoserine aminotransferase | A6QR28 | 40.5 | 6 | 12 | 125.30 | 92.86 | 19.46 |
| SELENBP1 | Selenium-binding protein 1 | Q2KJ32 | 52.6 | 9 | 16 | 205.62 | 90.75 | 31.57 |
| STIP1 | Stress-induced-phosphoprotein 1 | Q3ZBZ8 | 62.5 | 1 | 3 | 19.96 | 99.40 | 2.76 |
| TF ^a | Serotransferrin precursor | Q29443 | 77.7 | 5 | 7 | 67.42 | 92.47 | 9.52 |

Las letras en superíndice indican diferentes "spots" de la misma proteína. *PM= peso molecular teórico de la proteína en base a su secuencia de aminoácidos.

Continuación...Tabla 22 Proteínas identificadas de FOB, FUB y SSB en fase periovulatoria.

| Símbolo | Nombre | Acceso | PM* (kDa) | Péptidos únicos | Núm. péptidos | Score | SPI | Cobertura (%) |
|-----------------|--|---------------|----------------------|----------------------------|--------------------------|--------------|------------|--------------------------|
| TF ^b | Serotransferrin precursor | Q29443 | 77.7 | 2 | 2 | 19.73 | 94.00 | 3.55 |
| TF ^c | Serotransferrin precursor | Q29443 | 77.7 | 8 | 14 | 145.72 | 92.02 | 13.49 |
| TF ^d | Serotransferrin precursor | Q29443 | 77.7 | 11 | 23 | 260.04 | 93.27 | 21.88 |
| TPI1 | Triosephosphate isomerase | Q5E956 | 26.7 | 5 | 12 | 117.63 | 96.12 | 33.33 |
| TPPP3 | Tubulin polymerization-promoting protein family member 3 | Q3ZCC8 | 18.9 | 3 | 13 | 163.49 | 94.01 | 27.84 |
| TUBA1B | Tubulin alpha-1B chain | P81947 | 50.2 | 8 | 45 | 600.20 | 94.82 | 30.60 |
| TUBB5 | Tubulin beta-5 chain | Q2KJD0 | 49.7 | 7 | 15 | 199.53 | 90.17 | 23.87 |
| VCP | Transitional endoplasmic reticulum ATPase | Q3ZBT1 | 89.3 | 20 | 35 | 376.38 | 92.42 | 39.20 |

Las letras en superíndice indican diferentes "spots" de la misma proteína. *PM=Peso molecular teórico de la proteína en base a su secuencia de aminoácidos

Para determinar las relaciones funcionales que mantienen estas proteínas entre sí (redes), se utilizó la herramienta informática STRING 9.1 (Franceschini et al., 2013) y el resultado obtenido se observa en la figura 63. Hasta un total de 91 interacciones fueron detectadas. En base a estas evidencias se logró elaborar una tabla de GO de funciones moleculares y procesos biológicos en las cuales estas proteínas están involucradas (Tabla 23.)

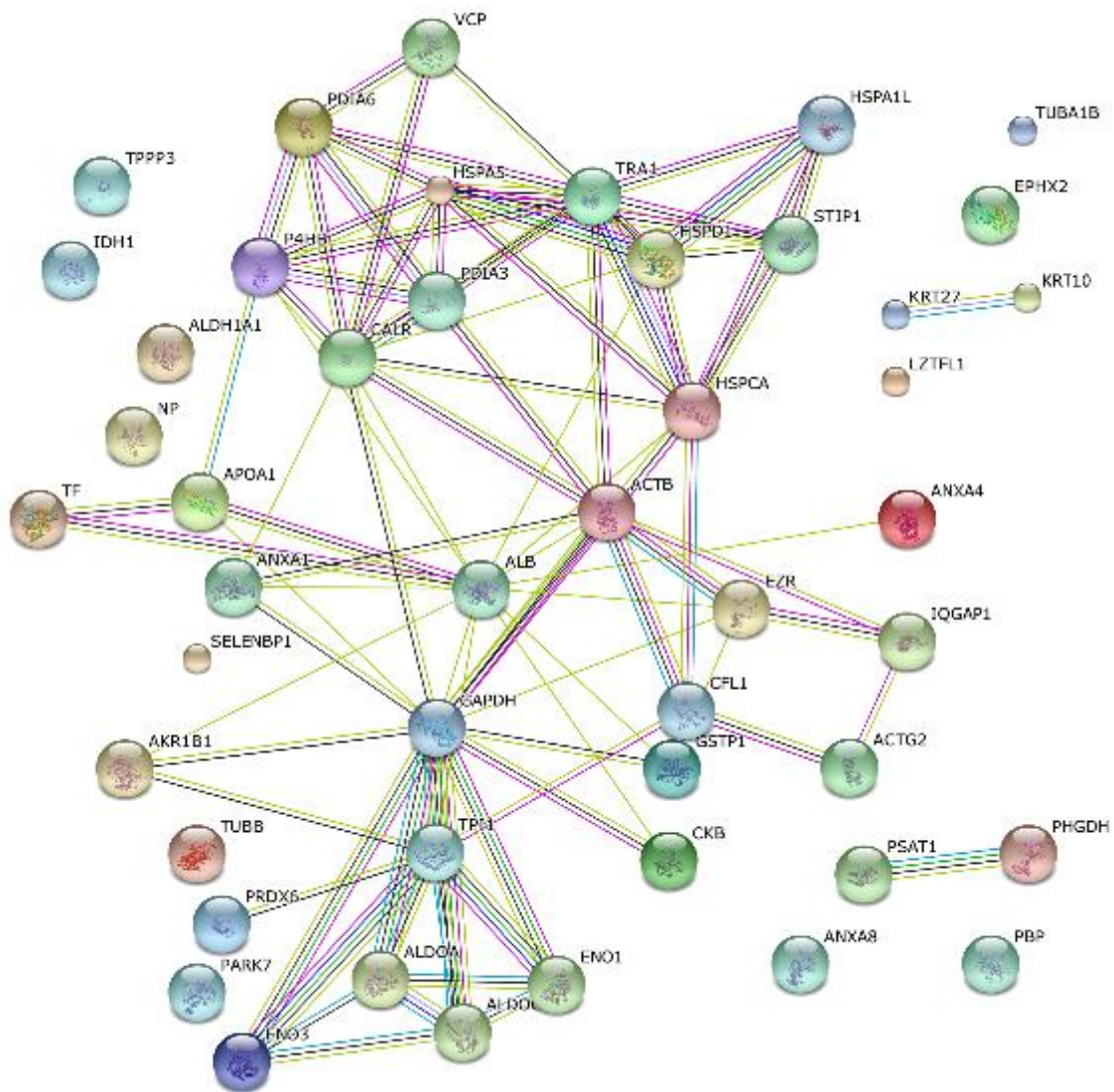


Figura 63 Red de interacción por evidencia de las 47 proteínas identificadas por MS/MS de FOB y FUB en fase periovulatoria, se observan 91 interacciones. Elaborado con la herramienta bioinformática STRING 9.1 (Franceschini et al., 2013).

Tabla 23 Gene Ontology (GO) de procesos biológicos y funciones moleculares de proteínas identificadas de FOB y FUB en fase periovulatoria.

| GO id | Nombre | Número de proteínas | p-valor |
|------------|--|---------------------|----------|
| GO:0005515 | Proteína de unión | 28 | 8.44E-05 |
| GO:0050896 | Respuesta al estímulo | 28 | 5.11E-07 |
| GO:0042221 | Respuesta química | 27 | 2.61E-12 |
| GO:0005488 | Unión | 26 | 2.58E-02 |
| GO:0044707 | Proceso celular de organismo simple multicelular | 25 | 9.74E-07 |
| GO:0032501 | Proceso de organismo multicelular | 24 | 6.46E-06 |
| GO:0006950 | Respuesta al estrés | 22 | 3.47E-09 |
| GO:0065007 | Regulación biológica | 22 | 3.58E-02 |
| GO:0044763 | Proceso celular de organismo simple | 22 | 4.85E-02 |
| GO:0097159 | Unión a compuesto orgánica | 21 | 2.19E-04 |
| GO:0043167 | Unión a ion | 21 | 1.73E-03 |
| GO:0051716 | Respuesta celular al estímulo | 21 | 1.64E-04 |
| GO:0065008 | Regulación de la calidad biológica | 20 | 1.43E-08 |
| GO:0008150 | Proceso biológico | 20 | 3.59E-01 |
| GO:1901363 | Unión a compuesto heterocíclico | 19 | 1.59E-03 |
| GO:0044710 | Proceso metabólico de organismo simple | 18 | 8.00E-05 |
| GO:0071704 | Proceso metabólico sustancia orgánica | 18 | 9.50E-02 |
| GO:0050794 | Regulación del proceso celular | 18 | 1.80E-01 |
| GO:0043168 | Unión a aniones | 17 | 2.08E-06 |
| GO:0036094 | Pequeña molécula de unión | 17 | 3.27E-06 |
| GO:0006796 | Proceso metabólico de compuestos que contienen fosfato | 17 | 3.36E-08 |
| GO:0006793 | Proceso metabólico del fosforo | 17 | 4.32E-08 |
| GO:0010033 | Respuesta a la sustancia orgánica | 17 | 1.84E-07 |
| GO:0044281 | Proceso metabólico de pequeñas moléculas | 17 | 5.43E-07 |
| GO:0016043 | Organización de componentes celulares | 17 | 7.11E-04 |
| GO:0071840 | Biogénesis de componentes celulares | 17 | 9.62E-04 |
| GO:0044238 | Procesos metabólicos primarios | 17 | 1.39E-01 |
| GO:0050789 | Regulación de procesos biológicos | 17 | 3.20E-01 |
| GO:0048583 | Regulación de respuesta al estímulo | 16 | 3.99E-05 |
| GO:0051234 | Establecimiento de la localización | 16 | 6.27E-05 |
| GO:0007275 | Desarrollo de organismo multicelular | 16 | 1.19E-03 |
| GO:0044237 | Proceso metabólico celular | 16 | 1.94E-01 |
| GO:0003723 | Unión a ARN | 14 | 3.35E-07 |
| GO:1901265 | Unión a nucleósidos de fosfato | 14 | 8.61E-05 |
| GO:0003676 | Unión de ácidos nucleicos | 14 | 3.98E-03 |
| GO:0003674 | Función molecular | 14 | 9.65E-01 |
| GO:0042802 | Unión a proteína idéntica | 12 | 7.72E-07 |
| GO:0001882 | Unión nucleósido | 12 | 1.28E-04 |
| GO:0097367 | Unión derivados de carbohidratos | 12 | 6.34E-04 |

| | | | |
|------------|---|----|----------|
| GO:0019899 | Unión a enzimas | 11 | 3.43E-05 |
| GO:0032550 | Unión a purinas ribonucleósida | 11 | 5.12E-04 |
| GO:0001883 | Unión purina nucleósida | 11 | 5.20E-04 |
| GO:0035639 | Unión purina nucleósida trifosfato | 11 | 5.36E-04 |
| GO:0032553 | Unión ribonucleótido | 11 | 6.25E-04 |
| GO:0017076 | Unión purina nucleótido | 11 | 6.34E-04 |
| GO:0046872 | Unión ion de metal | 11 | 1.69E-01 |
| GO:0005524 | Unión ATP | 9 | 2.06E-03 |
| GO:0032559 | Unión adenilribonucleótido | 9 | 2.30E-03 |
| GO:0030554 | Unión adenilnucleótido | 9 | 2.50E-03 |
| GO:0030234 | Regulación de actividad enzimática | 8 | 1.31E-04 |
| GO:0005102 | Unión al receptor | 8 | 1.58E-03 |
| GO:0016787 | Actividad hidrolasa | 8 | 1.89E-02 |
| GO:0003824 | Actividad catalítica | 8 | 4.54E-01 |
| GO:0008289 | Unión a lípidos | 7 | 6.89E-05 |
| GO:0046983 | Actividad de dimerización de proteínas | 7 | 3.95E-03 |
| GO:0042803 | Actividad homodimerización de proteínas | 6 | 1.61E-03 |
| GO:0032403 | Unión a complejo de proteínas | 6 | 3.65E-03 |

Datos obtenidos con la herramienta bioinformática STRING 9.1, p-valor calculado con dicha herramienta

Adicionalmente a las proteínas identificadas por espectrometría de masas se realizó otra búsqueda de proteínas anteriormente descritas en suero (Wait et al., 2002) y plasma sanguíneo (D'Ambrosio et al., 2005), así, como de fluido uterino (Muñoz et al., 2012a, Cohen et al., 2011, Gómez et al., 2013) en la especie bovina. Esto se realizó con el objetivo de perfeccionar los datos del proteoma de FOB y FUB, basado en las proteínas identificadas en nuestro análisis y las anteriormente descritas en el suero y plasma sanguíneo, así como en algunas de fluido uterino, se amplió la descripción del proteoma del FOB y del FUB (Fig. 64).

Con nuestros datos de proteínas identificadas complementados con las proteínas descritas con anterioridad, realizamos las redes de interacción, para el FOB, en este se observaron hasta 80 interacciones (Fig. 65) y en el FUB se encontraron 107 interacciones (Fig. 66). El paso siguiente fue el hacer la clasificación funcional para cada uno de los fluidos (Tabla 24 y Tabla 25).

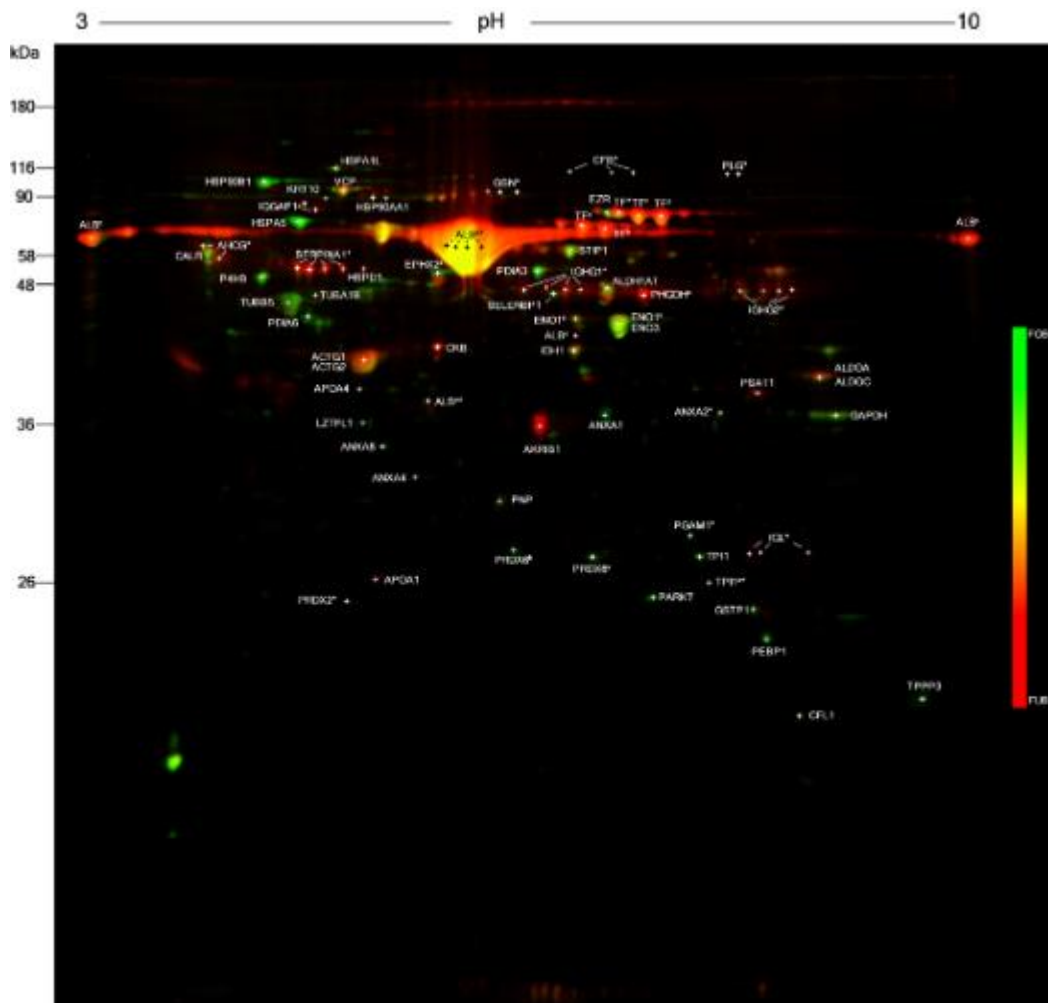


Figura 64 Electroforesis en 2D diferencial (DiGE) de FOB y FUB en fase periovulatoria. Proteínas identificadas por espectrometría de masas. En verde los "spots" mayormente expresados en el FOB, en rojo los mayormente expresados en FUB y en amarillo los comunes para ambas muestras. El asterisco indica las proteínas identificadas por otros autores.

Tabla 24 Gene Ontology (GO) de procesos biológicos y funciones moleculares de proteínas identificadas de FOB.

| GO id | Nombre | Número | p-valor |
|------------|--|--------|----------|
| GO:0050896 | Respuesta a estímulos | 28 | 1.52E-08 |
| GO:0005515 | Unión a proteínas | 26 | 6.03E-05 |
| GO:0042221 | Respuesta química | 25 | 5.65E-12 |
| GO:0005488 | Unión | 25 | 8.88E-03 |
| GO:0044707 | Proceso de organismo multicelular simple | 23 | 1.35E-06 |
| GO:0044699 | Proceso de organismo simple | 23 | 9.01E-03 |
| GO:0006950 | Respuesta al estrés | 22 | 2.19E-10 |
| GO:0032501 | Proceso de organismo multicelular | 22 | 9.17E-06 |
| GO:0008150 | Proceso biológico | 21 | 9.68E-02 |
| GO:0051716 | Respuesta celular al estímulo | 20 | 7.85E-05 |
| GO:0065007 | Regulación biológica | 20 | 3.64E-02 |
| GO:0050794 | Proceso de regulación celular | 19 | 3.75E-02 |

| | | | |
|------------|--|----|----------|
| GO:0044707 | Proceso organismo multicelular simple | 24 | 8.74E-07 |
| GO:0065007 | Regulación biológica | 24 | 2.80E-03 |
| GO:0032501 | Proceso de organismo multicelular | 23 | 6.02E-06 |
| GO:0044763 | Proceso de organismo celular simple | 22 | 2.14E-02 |
| GO:0065008 | Regulación de la calidad biológica | 21 | 4.61E-10 |
| GO:0097159 | Compuesto orgánico cíclico vinculante | 20 | 2.32E-04 |
| GO:0050794 | Regulación de procesos celular | 20 | 3.16E-02 |
| GO:0043167 | Unión a Ion | 19 | 4.49E-03 |
| GO:0016043 | Componentes de organización celular | 19 | 2.07E-05 |
| GO:1901363 | Compuestos heterocíclicos vinculante | 18 | 1.79E-03 |
| GO:0010033 | Respuesta a la sustancia orgánica | 18 | 8.26E-09 |
| GO:0006810 | Transporte | 18 | 7.38E-07 |
| GO:0051179 | Localización | 18 | 1.66E-05 |
| GO:0044710 | Proceso metabólico de organismo simple | 18 | 2.83E-05 |
| GO:0071704 | Proceso metabólico de sustancia orgánica | 18 | 5.24E-02 |
| GO:0008150 | Proceso biológica | 18 | 4.53E-01 |
| GO:0009987 | Proceso celular | 18 | 5.02E-01 |
| GO:0044238 | Proceso metabólico primario | 17 | 8.25E-02 |
| GO:0036094 | Pequeña molécula de unión | 16 | 5.85E-06 |
| GO:0016192 | Transporte medido por vesículas | 16 | 4.19E-12 |
| GO:0007275 | Desarrollo del organismo multicelular | 16 | 5.19E-04 |

Datos obtenidos con la herramienta bioinformática STRING 9.1, p-valor calculado con dicha herramienta

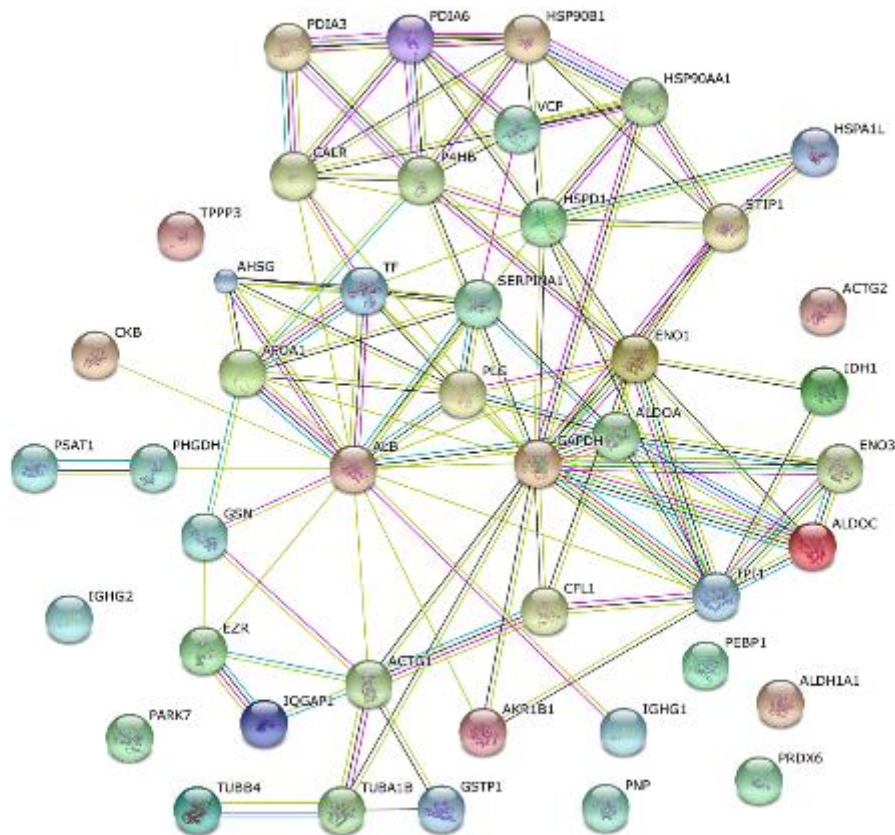


Figura 66 Red de interacción por evidencia de las 44 proteínas de FUB. Elaborado con la herramienta bioinformática STRING 9.1 (Franceschini et al., 2013).

5.1.1.2.3.- Western-blot

En este apartado se muestran los resultados de Western-blot, que fueron realizados para confirmar algunas proteínas encontradas como diferencialmente expresadas en el fluido oviductal y uterino. Las proteínas seleccionadas fueron la OVGP1, ANXA1 con alta expresión en el oviducto y la AKR1B1 como mayormente expresada en el fluido uterino.

Para la Inmunodetección de la OVGP1 se muestra una banda de aproximadamente 80 kDa en el fluido oviductal, en contraste en el fluido uterino se aprecia una banda sumamente débil de 80 kDa (Fig. 67a). Para la proteína ANXA1 los resultados fueron de una banda de 37 kDa en el fluido oviductal y la ausencia de esta banda en el fluido uterino (Fig. 67b). En contraste la proteína AKR1B1 mostró una banda muy evidente y abundante en el fluido uterino y la ausencia de ella en la muestra de fluido oviductal (Fig. 67c).

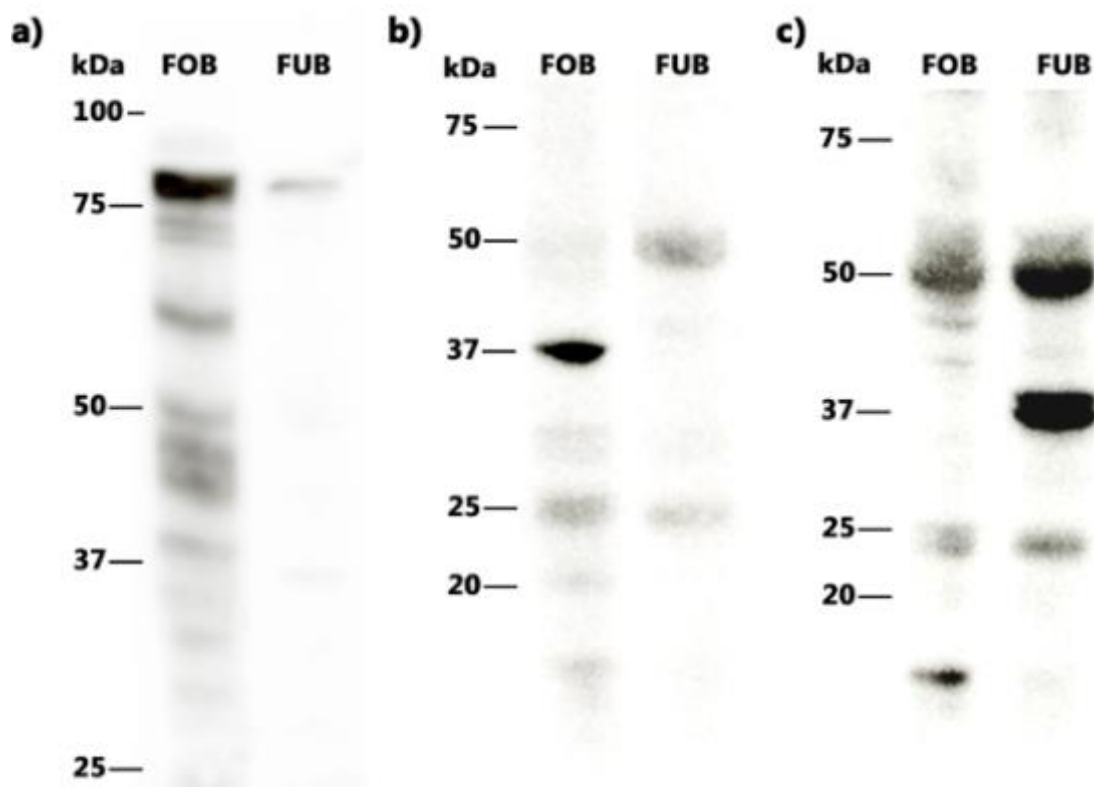


Figura 67 Inmunodetección por Western-blot en membrana en FOB y FUB con anticuerpo anti-OVGP1. Se observa detección positiva en una banda de 80 kDa aproximadamente en FOB (a). Inmunodetección en FOB y FUB con anticuerpo anti-ANXA1, se observa detección positiva en una banda de 37 kDa aproximadamente en FOB (b). Inmunodetección en FOB y FUB con anticuerpo anti-AKR1B1, se observa detección positiva en una banda de 37 kDa aproximadamente en FOB (c).

5.2.- SPAM1

5.2.1.- Análisis molecular

5.2.1.1- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Los resultados obtenidos de las amplificaciones por PCR con ADNc de oviducto bovino, dieron como resultado amplicones que se correspondían con la secuencia de SPAM1 bovina. Adicionalmente a los amplicones de bovino se utilizaron cebadores y ADNc de diferentes especies de mamíferos, incluido los de humano, que dio como resultado la amplificación de productos en las diferentes especies bajo estudio (mujer, yegua, vaca y cerda) (Fig. 68). Los productos obtenidos fueron secuenciados automáticamente en el servicio central de esta universidad. Las secuencias se correspondieron con las publicadas en la base de datos de GenBank para las diferentes especies.

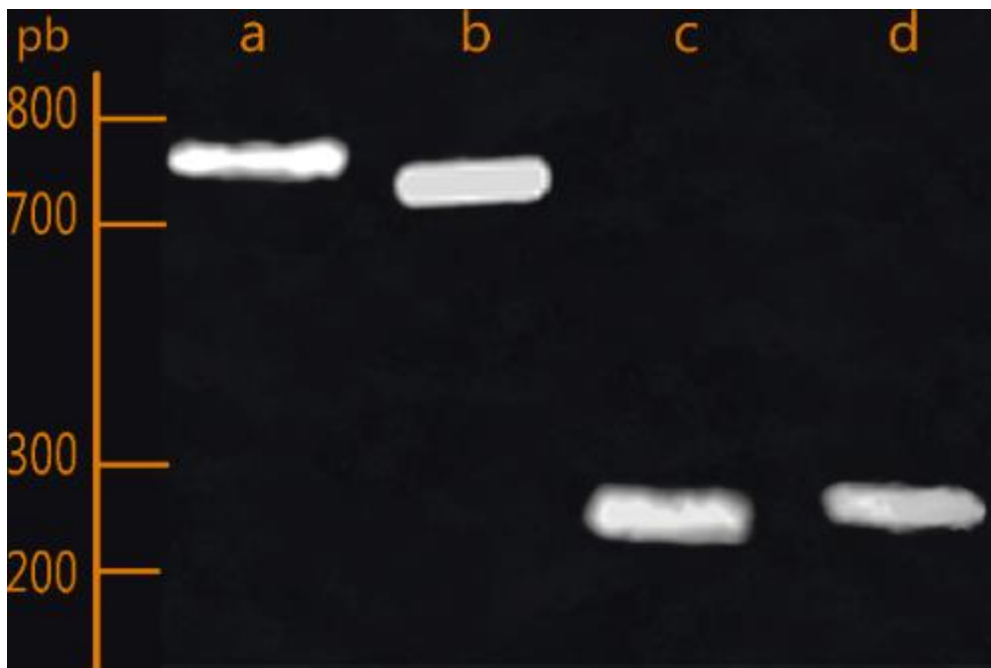


Figura 68 Expresión por PCR de SPAM1 en oviducto de diferentes especies de mamíferos. Mujer (a), yegua (b), vaca (c) y cerda (d).

5.2.2.- Análisis Bioquímico

5.2.2.1.- Western-blot

Los resultados obtenidos nos muestran claramente dos patrones de expresión en los diferentes FOBs. El primero es donde el anticuerpo monoclonal anti-SPAM1 muestra especificidad por 3 bandas, una de 80 kDa que coincide con el control positivo y otra banda doble de entre 55 y 60 kDa (Fig. 69 b y d). El otro patrón es el que sólo muestra la banda doble de 55 y 60 kDa (Fig. 69 c, e y f). Sin embargo, en el lisado de células epiteliales del oviducto de vaca, el anticuerpo mostró especificidad por la banda de 55 kDa (Fig. 69g).

Como control positivo se utilizaron los espermatozoides bovinos. El anticuerpo monoclonal anti-SPAM1 reconoció específicamente una banda de aproximadamente 80 kDa (Fig. 69a), que concuerda con los resultados descritos previamente en la bibliografía (Morin et al., 2010, Lalancette et al., 2001).

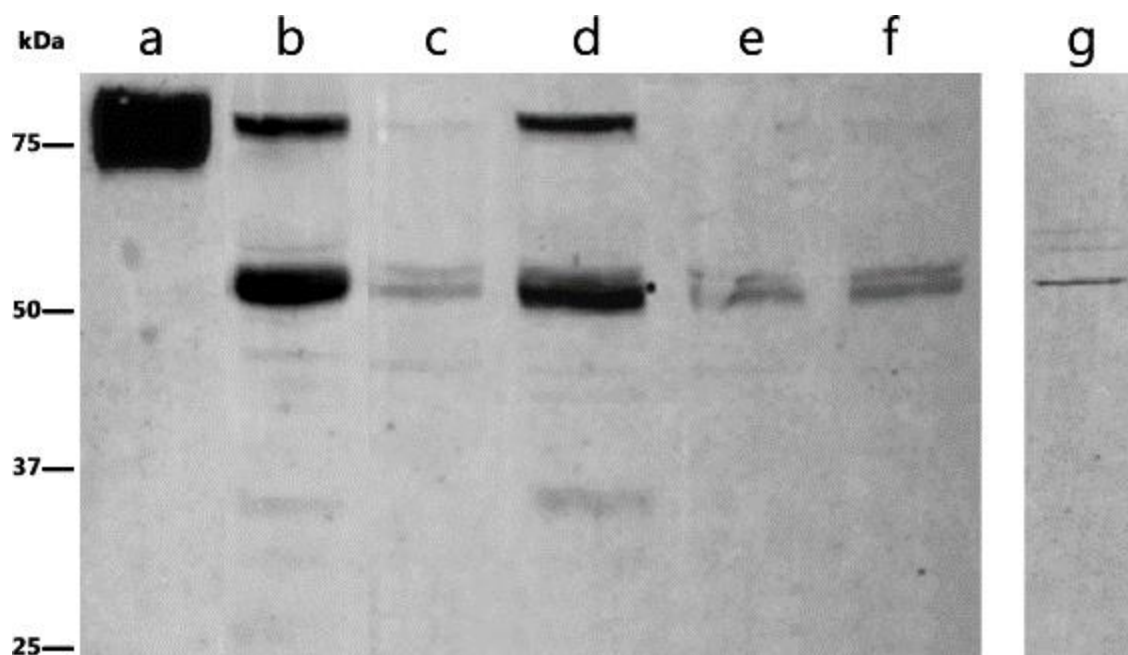


Figura 69 Inmunodetección por Western-blot de SPAM1 en espermatozoides y FOBs bovinos. Proteína obtenida de $1 (x10^6)$ espermatozoides bovinos (a). $10 \mu\text{g}$ de diferentes pools de FOB's en fase preovulatoria (b-f). $10 \mu\text{g}$ de proteína obtenida a partir de lisado de células epiteliales de oviducto de vaca (g). (Anticuerpo anti-SPAM1 bovino a una concentración 1:100).

5.2.2.2- Inmunoprecipitación

Debido a la gran cantidad de proteínas contenidas en el FOB, se optó por inmunoprecipitar SPAM1 contenida en el FOB para su posterior identificación por espectrofotometría de masas (MS). Como se describió en los materiales y métodos se utilizaron dos protocolos de inmunoprecipitación con perlas magnéticas. El protocolo de crosslink y el protocolo clásico.

5.2.2.2.- Tinción de coomassie

La inmunoprecipitación de SPAM1 con el protocolo crosslink y posterior a la electroforesis y tinción con coomassie, nos dio como resultado una única banda de aproximadamente 50 kDa (Fig. 70b). En cambio el protocolo clásico se observaron bandas de 60, 50 y 25 kDa aproximadamente (Fig. 70c) aunque la de mayor intensidad fue la de 50 kDa. Estas bandas fueron recortadas e identificadas como SPAM1 bovina por MS. Otra información relevante que aportó este resultado, fue que el anticuerpo anti-SPAM1 no reconoció la forma nativa de la proteína en la banda de 70 y 80 kDa (anteriormente publicada Morin et al., 2010) ya que esta no fue inmunoprecipitada.

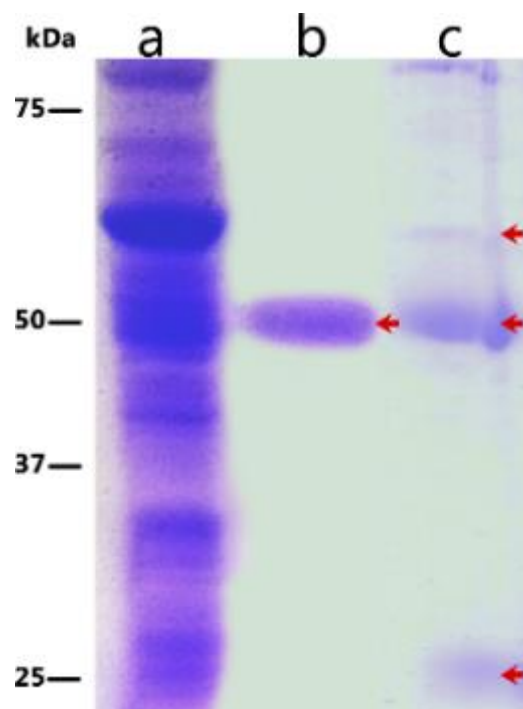


Figura 70 Gel SDS-PAGE de inmunoprecipitación de SPAM1. Resolución de 10 µg aprox. de FOB (a), inmunoprecipitación con el protocolo de crosslink (b) y clásico (c) Teñido con azul de coomassie.

5.2.2.2.- Western-blot

Al hacer la inmunodetección en membrana con el anticuerpo monoclonal anti-SPAM1 bovino, se observaron patrones diferentes de inmunoprecipitación dependiendo del protocolo utilizado. En la inmunoprecipitación mediante el protocolo de *crosslink* se observa una banda única de entre 55 y 60 kDa, sin embargo, con el protocolo clásico se observaron bandas mayoritarias de 80, 60 y 25 kDa (Fig. 71).

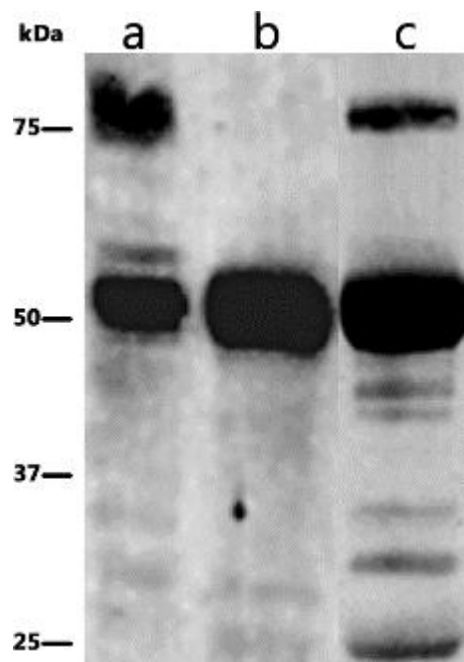


Figura 71 Inmunodetección por Western-blot de SPAM1 de proteína inmunoprecipitada de FOB. Control de FOB total 10 µg (a). Proteína Inmunoprecipitada de FOB mediante protocolo *crosslink* (b). Proteína Inmunoprecipitada de FOB mediante protocolo clásico de inmunoprecipitación (c).

5.2.3.- Análisis proteómico

5.2.3.1.- Análisis proteómico

Los resultados obtenidos después de recortar las diferentes bandas de los gels de coomassie (flechas rojas, figura 70) y su posterior secuenciación por MS/MS nos dieron como resultado hasta 13 diferentes péptidos. En las bandas que se encontraron secuencias correspondientes a la secuencia publicada de SPAM1 en la especie bovina (GenBank AAI10184) fueron principalmente las de 50 y 75 kDa.

Adicionalmente también fueron identificados péptidos de SPAM1 en las bandas de 60, 35 y 25 kDa (Tabla 27).

Tabla 26 Secuencias de péptidos identificados de SPAM1 bovino inmunoprecipitado del FOB.

| Detectado en (kDa) | Secuencias | Score | SPI% |
|--------------------|--|-------|-------|
| 50 y 75 | (K)SFMQEtLKLGLLRPNHLWGYLFPDCYNHNNHQPTYNGNCPDVEK(R) | 32.96 | 89.87 |
| 35, 50 y 75 | (K)VRCSEVIPNVTQkAcQSVK(L) | 17.54 | 67.98 |
| 35 y 75 | (K)ACQSVKLNISYQSPIQNIKNQTTY(-) | 13.20 | 69.67 |
| 25 | (K)HSPECLKVRCSEVIPNVTQKACQsVKLNISYQSPIQNIK(N) | 13.06 | 63.60 |
| 50 y 75 | (K)kRVDIk(N) | 11.24 | 50.93 |
| 35 y | (R)cSEVIPNVTQKAcQSVK(L) | 9.68 | 81.45 |
| 25 y 50 | (K)RRNDDEWLWkEsTALFPSVYLNIRLSTQNAALYVR(N) | 9.31 | 60.75 |
| 35 y 50 | (R)LGYYPHIDEktGK(T) | 7.88 | 72.65 |
| 75 | (K)VDFETAGKSFmQETLKLgk(L) | 4.26 | 53.50 |
| 25 | (K)NPQLSFPEASKIAKVDFETAGKSFmQEtLK(L) | 4.07 | 62.10 |
| 60 | (K)VRCSEVIPNVTQKACQSVK(L) | 4.00 | 59.60 |
| 25 | (R)kHWNSsDYHLNPMNFAIQTEGGGkyTVPGLTLLEDLQK(F) | 3.09 | 57.40 |
| 50 | (K)DVYRDESVELVLQKNPQLSFPEASK(I) | 3.04 | 60.60 |

Adicionalmente se obtuvieron resultados positivos de la identificación por MS/MS de exosomas aislados de fluido oviductal. De estos se identificaron hasta 12 péptidos diferentes con un score >7 y un SPI > 70 (Tabla 28).

Tabla 27 Secuencias de péptidos identificados de SPAM1 a partir de exosomas aislados de FOB.

| Secuencias | Score | SPI% |
|---|-------|------|
| (S)LGASGIIMWGSNLNLSMQSCmNLGTyLNT(T) | 11.14 | 76.9 |
| (T)YLSQGDLVNSVGEIVSLGAsGIIMWGsLN(L) | 10.65 | 77.3 |
| (S)MQSCmNLGTyLNTTLNPyII(N) | 9.49 | 81.8 |
| (S)GIImWGSNLNLSmMQSCMNLGTyLNTTLNPyIIN(V) | 8.4 | 96 |
| (V)cmaEDICIDSPVKLQPSDHsSQEASTTFFSS(I) | 8.37 | 73.9 |
| (T)TLNPyIINVTLaAKmCSQVLCHNEGVcTRKHWNSS(D) | 8.22 | 72.7 |
| (L)NPyIINVTLaAKmCsQVLCHNEGVCTRK(H) | 8.16 | 71.8 |
| (I)IMWGSNLNLSmMQSCMNLGt(Y) | 8.14 | 90.4 |
| (L)VNSVGEIVSLGASGIIMWGSNLNLSMQsCMNL(G) | 7.53 | 70.2 |
| (E)VIPNVtQKACQSVKLNIsYQSPIQNIKNQTTY(-) | 7.5 | 77.9 |
| (I)DWENWRPTWARNWPKDvYRD(E) | 7.43 | 77.2 |
| (Q)sCmNLGTyLNTT(L) | 7.12 | 89.1 |

5.2.4.- Análisis Histoquímico

5.2.4.1.- Microscopia Óptica (MO)

Los resultados inmunohistoquímicos para la detección de SPAM1 en el oviducto de la especie bovina nos mostraron presencia de la proteína en el epitelio oviductal del istmo. La presencia de SPAM1 se localizó en el citoplasma de las células epiteliales, en la región apical. En los resultados obtenidos no se pudo apreciar una expresión diferencial entre células secretoras y ciliadas del epitelio oviductal (Fig. 72).

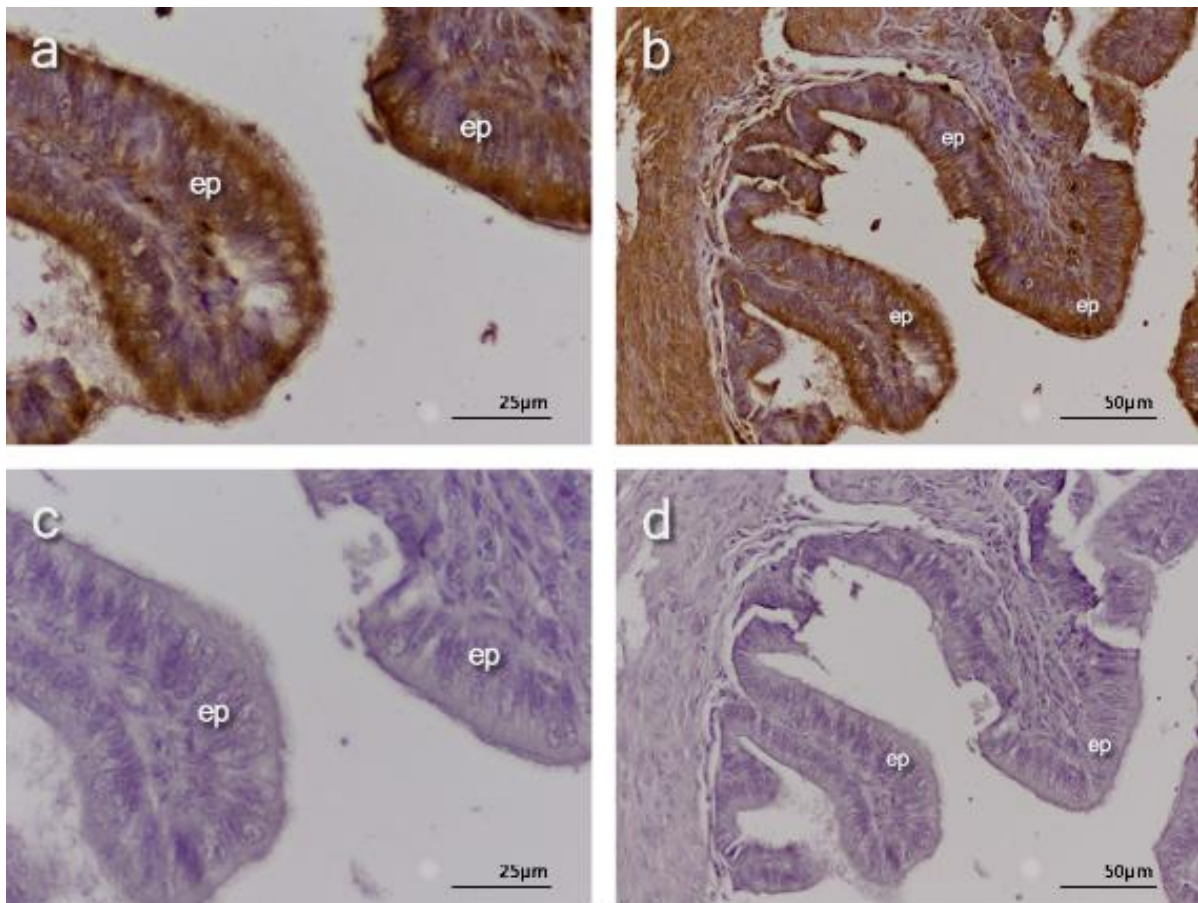
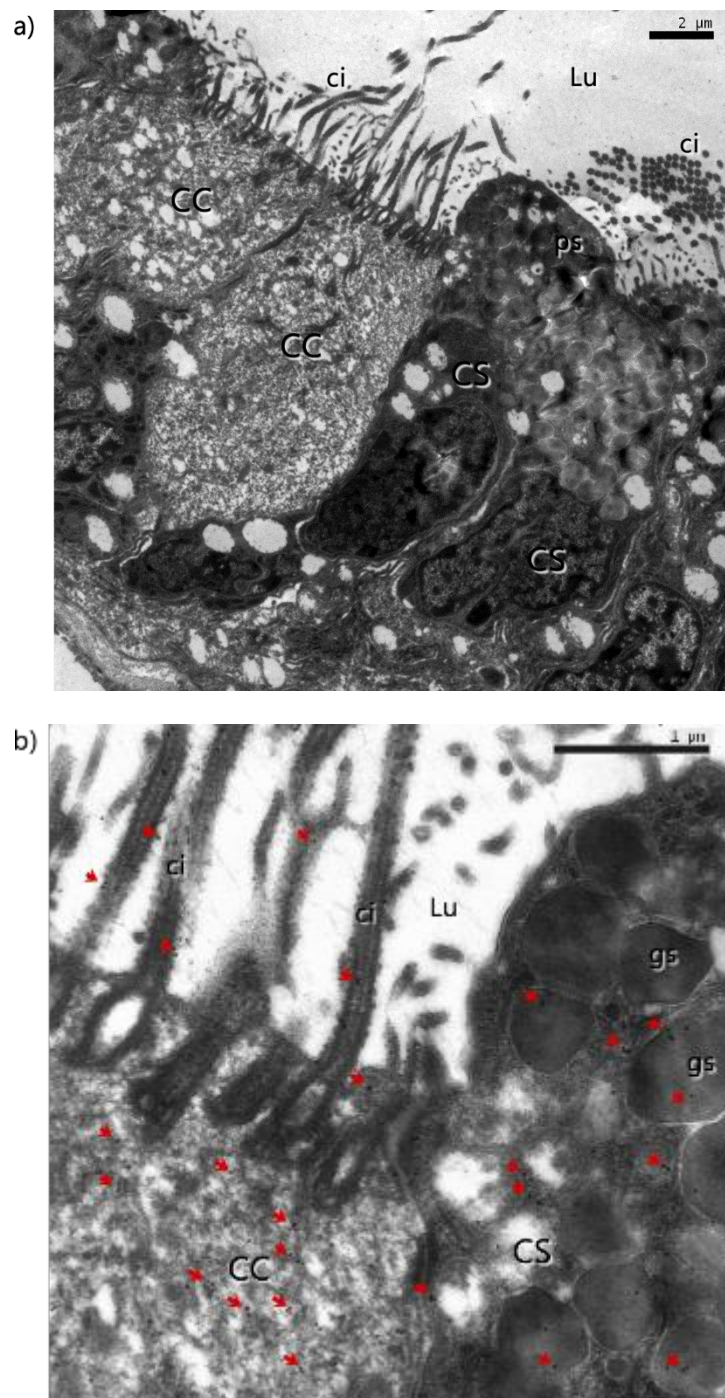


Figura 72 Inmunodetección con anti SPAM1 bovino (1:100) en corte histológico de istmo oviductal de vaca, visto al microscopio óptico, revelado con DAB (a y b). Control de técnica incubación sin anticuerpo primario (c y d).

5.2.4.2.- Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Mediante microscopía electrónica pudimos observar un débil inmunomarcaje en el citoplasma de las células ciliadas y células secretoras. Este marcaje no se asoció a ninguna estructura citoplasmática. No se observa un marcaje específico de los gránulos secretores de células secretoras. Se observa un escaso marcaje a nivel de la membrana plasmática de los cilios así como en el lumen del oviducto (Fig. 73).



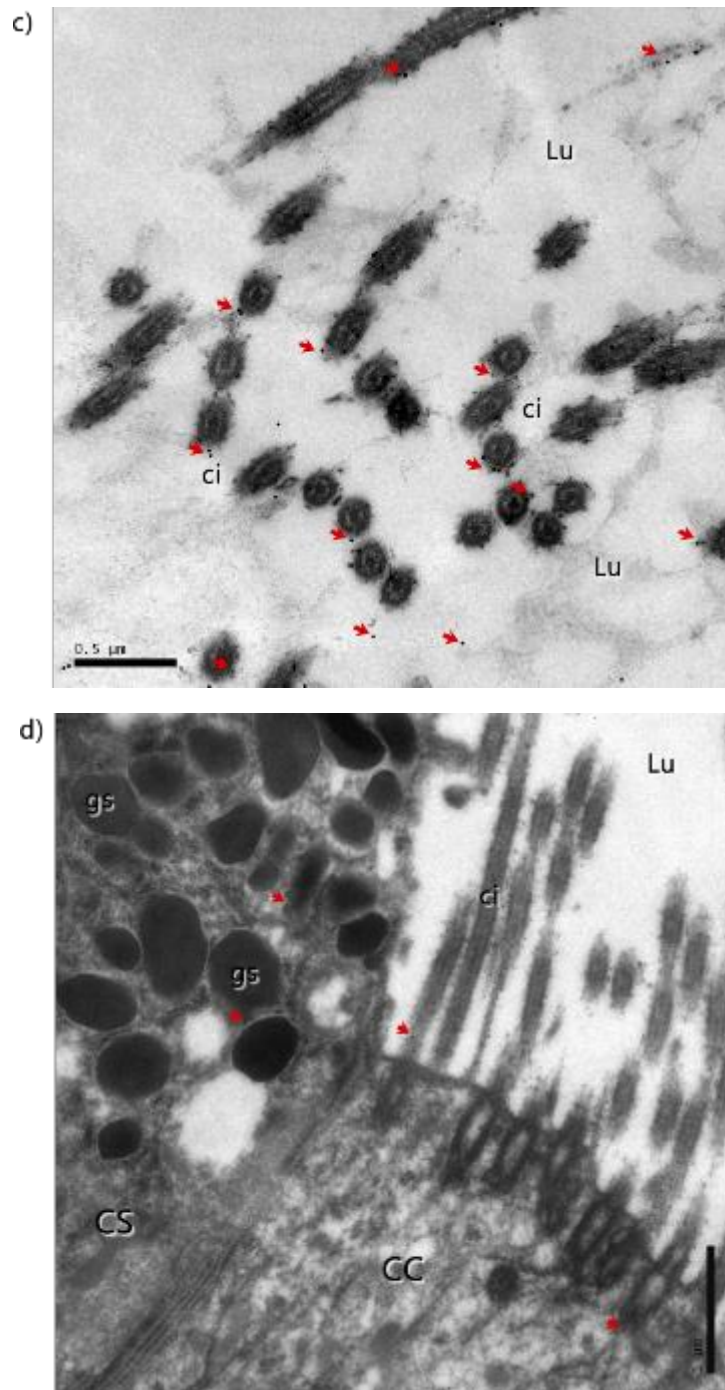


Figura 73 TEM de inmunocitoquímica ultraestructural de oviducto bovino con anti-SPAM1. Apariencia general del epitelio de la ampolla oviductal (6000x), se muestran las células ciliadas (CC), células secretoras (CS) y el lumen (Lu) del oviducto bovino (a). Muestras incubadas con anticuerpo monoclonal anti-SPAM1. Se observa marcaje (flechas rojas) en CC en citoplasma y membrana de los cilios (ci), además se marca las CS en citoplasma, polo secretor (ps), sin ser exclusivo el marcaje en gránulos secretores (gs) (20000x) (b). Se observa la membrana de los Ci marcados con partículas de oro (señalados flechas rojas), así como en la luz del órgano (c). Control de la técnica de inmunoprecipitación sin anti-SPAM1. Se observan CC y CS se muestran algunas partículas de oro localizadas de forma aleatoria (d).

Se utilizó un anticuerpo anti-OVGP, que es la proteína más abundante secretada por el oviducto. Se observa un marcaje intenso y específico a nivel de los gránulos secretores presentes en las células secretoras. No se observa marcaje en las células ciliadas. Se detecta un marcaje escaso a nivel del lumen oviductal (Fig. 74).

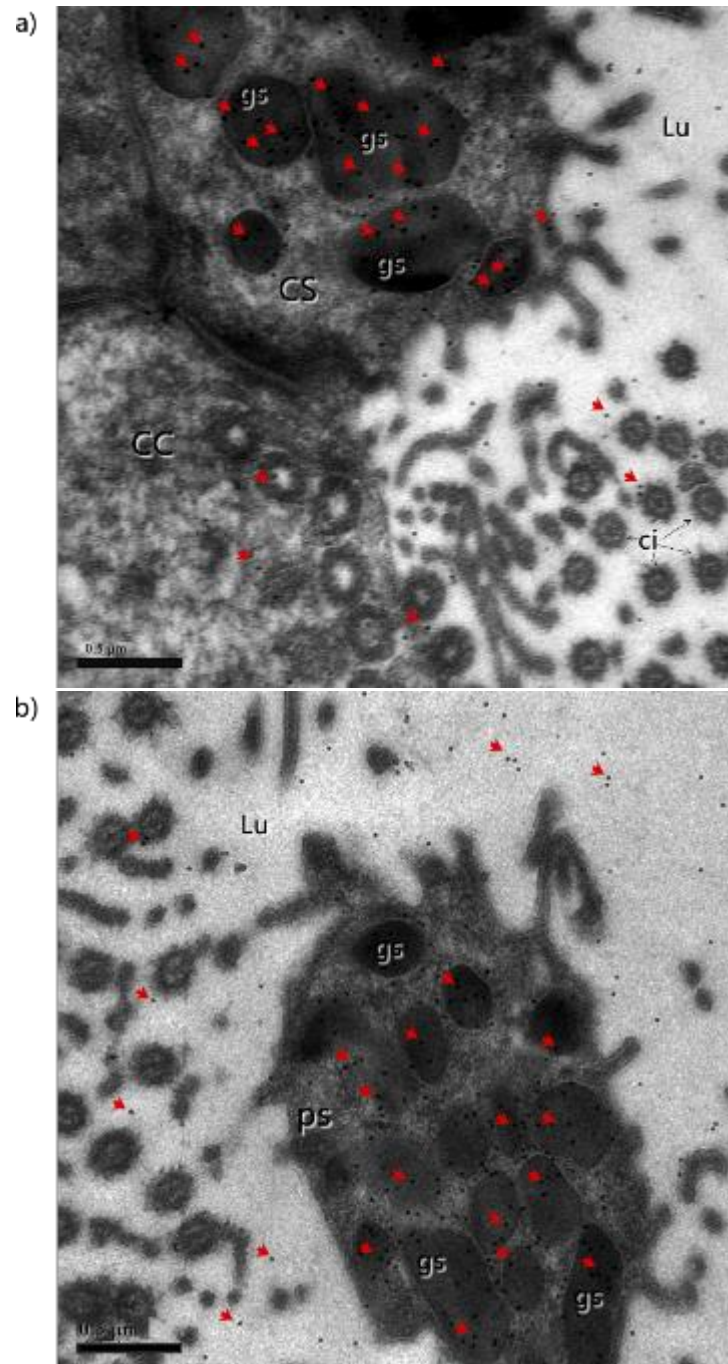


Figura 74 TEM de inmunocitoquímica ultraestructural de oviducto bovino con anti-OVGP1. Se observan células epiteliales de la región de la ampolla del oviducto (40000x), se muestran las células ciliadas (CC), células secretoras (CS), el lumen (Lu) y cilios (ci). Muestras incubadas con anticuerpo monoclonal anti-OVGP1. Se observa marcaje (flechas rojas) en CS en los granulos de secreción (gr) y lumen del oviducto (a). Se observa el polo secretor (ps) de un CS en corte trasversal (40000x), se observa marcaje localizado en gr y lumen del oviducto (b)

5.2.5- Unión de SPAM1 oviductal a la ZP de ovocitos bovino

Una vez que los ovocitos bovinos fueron incubados con la proteína SPAM1 inmunoprecipitada de FOB, fueron fijados y observados al microscopio confocal. Se observó inmunomarcaje positivo en la ZP de los ovocito y en el espacio perivitelino (Fig. 75d).

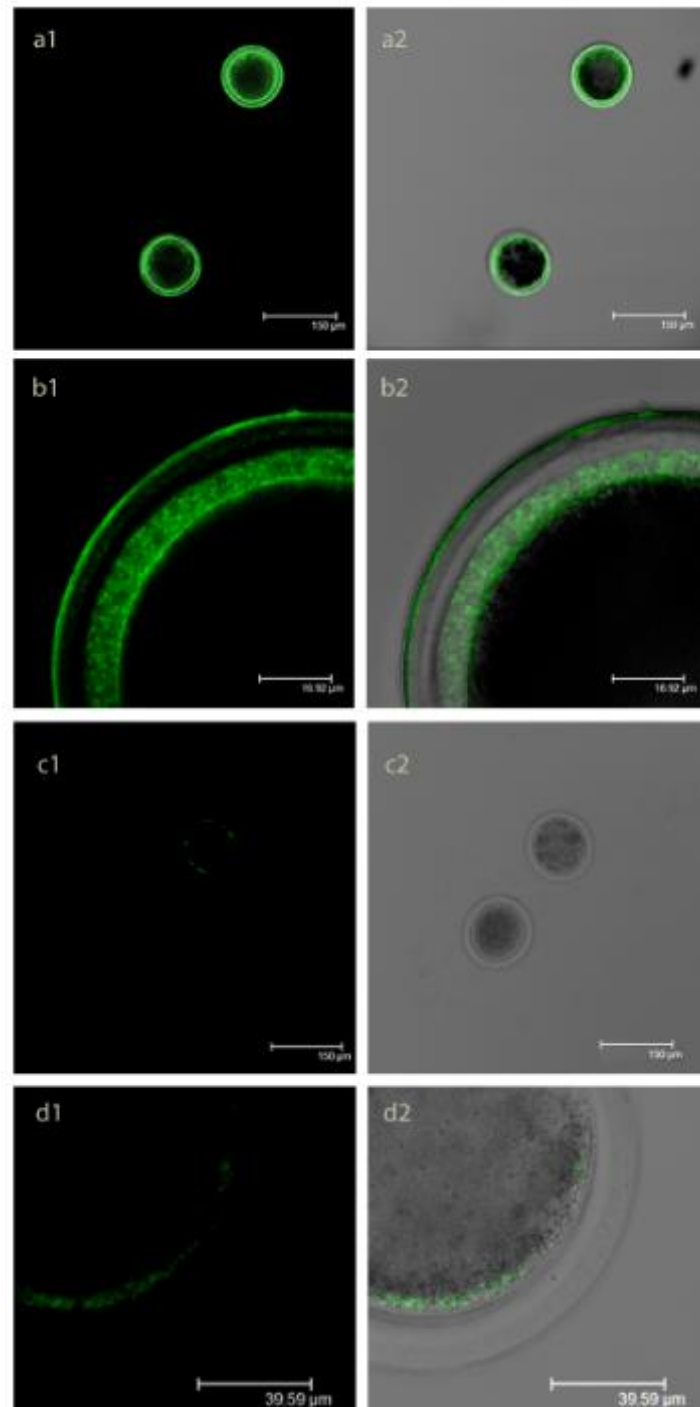


Figura 75 Inmunodetección con anti SPAM1 en ovocitos de vaca, observación microscópica confocal. Los ovocitos se incubaron con SPAM1 aislada de FOB, imagen de fluorescencia (a1 y b1) y la imagen de interpolación (a2 y b2) se observa fluorescencia en ZP y en el espacio perivitelino. Los ovocitos control (c1, c2, d1 y d2) no fueron incubados con la proteína SPAM1.

6 DISCUSIÓN

6 DISCUSIÓN

El epitelio del oviducto es importante para diferentes procesos reproductivos y se ha observado que este sufre cambios morfológicos y funcionales durante el ciclo estral. En la especie bovina se ha demostrado que la población de células epiteliales sufren modificaciones que dependen de las diferentes fases del ciclo estral. Así, en el estro el epitelio se compone principalmente de células secretoras y en el diestro de células ciliadas (Yaniz et al., 2000), siendo dichos cambios más evidentes en la ampolla.

En el endometrio los cambios en la células epiteliales, son inducidos principalmente por el influjo de la progesterona (P4), los estrógenos y la oxitocina en las diferentes fase del ciclo estral (Spencer et al., 2004). Estos datos fueron corroborados en vacas ovariectomizadas y después tratadas con P4 y estradiol (Shimizu et al., 2010). En el preestro y el estro, los niveles de P4 son más bajos y el folículo dominante produce grandes cantidades de estrógenos que conduce a la proliferación celular y al aumento de la síntesis de ARN ribosomal y de ADN (Jackson y Chalkley 1974). Este fenómeno fue observado en el endometrio de la vaca donde se observó una expresión de hasta dos veces más en el estro respecto al diestro (Bauersachs et al., 2005).

La respuesta a estos estímulos hormonales se ve reflejada en los cambios del transcriptoma en ambos órganos. Esto ha sido demostrado en diferentes trabajos de estudios comparativos de la expresión génica entre las diferentes fases del ciclo estral en el oviducto (Bauersachs et al., 2003) y endometrio de la vaca (Mitko et al., 2008). Sin embargo, nuestros resultados no pueden ser comparados del todo con estos estudios, ya que, estos fueron realizados con una plataforma de micromatrices diseñada por el propio laboratorio (Bauersachs et al., 2003; Bauersachs et al., 2007). Esta plataforma sólo cuenta con 1440 sondas de ADNc, que representan 950 genes diferentes.

Otras investigaciones publicadas por nuestro laboratorio (Mondejar et al., 2012) se encargaron del análisis *in silico* de datos

publicados en la trompa de Falopio humana en la fase folicular (Tone et al., 2008). Los resultados de este estudio *in silico* demostraron que hasta 5703 genes son expresados en la fase estudiada. Nuestros resultados en la especie bovina indicaron que hasta 2707 genes diferentes (datos normalizados, $\log_2 \leq -0,11$) fueron detectados en el oviducto bovino. Esta diferencia en el número de genes expresados es debido a la falta de anotación de los genes en la especie bovina. Sin embargo, al comparar estos datos se encontró que hasta 664 fueron comunes entre los genes de la especie humana y los de nuestro estudio en el oviducto bovino. Estos datos son muy similares a los publicados anteriormente (Mondejar et al., 2012), donde 636 genes fueron comunes entre los datos de la trompa de Falopio humana (Tone et al., 2008) y los del oviducto de la vaca (Bauersachs et al., 2004).

6.1.- EXPRESIÓN DIFERENCIAL ENTRE EL OVIDUCTO Y EL ENDOMETRIO DE LA VACA

En este apartado cabe destacar que el transcrito con mayor expresión diferencial entre el oviducto y endometrio fue OVGP1, tres sondas que pertenecen a este gen fueron las mayormente expresadas por el oviducto. A nivel molecular este es uno de los pocos genes o proteínas que se conoce que tiene un cambio en su expresión durante las diferentes fases del ciclo estral. Esto fue demostrado emulando las condiciones del ciclo estral *in vitro* en cultivos celulares de células epiteliales en la especie bovina (Sun et al., 1997) y porcina (Novak et al., 2002, Chen et al., 2013), revisado por Buhi en 2002.

Nuestros datos demuestran una alta expresión de ARNm del gen OVGP1 en la fase periovulatoria coincidiendo con los datos anteriormente publicados en la vaca (Bauersachs et al., 2004), donde se observó que la hibridación con sondas de ADNc para el ARNm bovino del gen OVGP1 expresa niveles muy altos, especialmente en el estro. En el estro, la concentración de ARNm fue de 371 pg/ μ g de ARN total,

mientras que, en el diestro la concentración sólo fue de 70 pg/ μ g de ARN total (Bauersachs et al., 2004). También se describió la expresión de este transcrito, que fue ligeramente mayor en el epitelio del oviducto contralateral bovino, en comparación con el oviducto ipsilateral (Bauersachs et al., 2003).

Se ha descrito que esta proteína influye en la capacitación, motilidad espermática y la interacción entre gametos en la fecundación, revisado por Buhi 2002. Sin embargo, la mutación de este gen en ratones knockout, no mostró variaciones en los índices de fertilidad (Araki et al., 2003), lo que indica que OVGP1 no es esencial para la fecundación en algunas especies.

Otro transcrito altamente expresado por el oviducto (12 sondas), y dentro de los que tienen los mayores datos de expresión diferencial entre el oviducto y el endometrio, fue el factor de complemento H (CFH).

Este gen se ha descrito previamente que se expresa en las células epiteliales de las vesículas seminales del cerdo (Sakaue et al., 2010). Estos autores demostraron que el CFH está presente en la membrana de los espermatozoides eyaculados, que es capaz de inhibir directamente la activación del complemento. Esto se demostró cuando se midió la actividad del complemento en diferentes fluidos reproductivos masculinos y femeninos, se mostró que la actividad del complemento fue hasta 6.1 veces mayor en los fluidos femeninos (vagina, útero y cuerno uterino), comparado con los fluidos del tracto reproductor masculino (fluido epididimario de cabeza, cuerpo y cola; fluido seminal) (Sakaue et al., 2010). Estos hallazgos indican que CFH se une a la región acrosomal externa y CFH soluble en los fluidos reproductivos juegan un papel importante en la protección de los espermatozoides contra el ataque del complemento en los tractos genitales masculinos y femeninos, función que podría ejercer en el oviducto.

Por otro lado, los transcritos de genes con mayor expresión en el endometrio bovino en nuestro estudio fueron un grupo perteneciente

a la familia de los colágenos (COL3A1, COL1A1, COL1A2, COL6A1, COL4A1). Estos colágenos en nuestro trabajo se clasificaron como secretados únicos en el endometrio. Por lo menos cuatro de estos colágenos fueron anteriormente descritos en el endometrio bovino en la fase de estro (Mitko et al., 2008). Se observó que estos genes, una vez clasificados por funcionalidad participan en la adhesión focal de las células y la remodelación de la matriz extracelular (EMC). La ECM juega un papel importante en algunos procesos celulares, tales como migración, adhesión, proliferación y diferenciación; así en el endometrio actúa como la base para la generación del tejido endometrial (Harrington et al., 1999, Yamada et al., 2002). Por lo tanto, la expresión de estos genes sugieren una remodelación de la ECM en el endometrio bovino (Yamada et al., 2002).

6.1.1.- Agrupamiento de las sondas detectadas por el análisis de micromatrices según su perfil expresión

6.1.1.1.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA1)

El primer grupo incluye hasta 1523 transcritos diferentes, este grupo se caracteriza por tener un aumento de expresión en los tejidos oviductales y una menor expresión en el endometrio. Después de la clasificación por funcionalidad, los resultados del análisis mostraron que 221 genes tenían una actividad catalítica. Dentro de este grupo de transcritos que codifican a enzimas pudimos identificar la heparanasa (HPSE), glutatión peroxidasa 2 (GPX2) y la serina quinasa específica de testículo 3 (TSSK3).

Existen evidencias de que el glicosaminoglicano heparina presente en el fluido oviductal estaría implicado en cambios de la ZP previos a la fecundación. Estos cambios contribuyen a la regulación de la poliespermia (Coy et al., 2008). Así, la enzima HPSE podría estar implicada en la regulación de la presencia de la heparina en el fluido oviductal. La HPSE es la principal endoglicosidasa que degrada en heparán sulfato en la especie porcina (Rempel et al., 2011). Así participa

en la remodelación y degradación de la matriz extracelular y en la remodelación de la membrana basal de las estructuras del ovario (Haimov-Kochman et al., 2005).

La enzima GPX2 pertenece a una familia (GPX) cuya principal función es proteger el organismo del daño oxidativo. Hasta el momento sólo GPX5 se había descrito como una enzima de interés reproductivo, habiéndose descrito en el epidídimo de diferentes especies de mamíferos (Drevet 2006). La enzima GPX5 se relaciona con la protección de los espermatozoides durante el tránsito y el almacenamiento en el epidídimo. La enzima GPX5 es secretada por el epidídimo y se encuentra asociada a la membrana plasmática del espermatozoide, esta transferencia desde el epidídimo de rata ocurre a través de epididimosomas (Taylor et al., 2013). Este mismo estudio demostró que GPX5 protege las células CHO-K1 (in vitro) de la peroxidación lipídica. La detección de la expresión de ARNm de GPX2 en el oviducto concuerda a lo encontrado en el oviducto de cerda en la fase postovulatoria (Izquierdo Rico MJ, comunicación personal). La presencia de esta proteína en el oviducto sugiere su participación en la protección de los gametos frente al daño oxidativo durante su tránsito en el oviducto y que la familia de estas proteínas puede ser transferida mediante exosomas a la membrana espermática.

La TSSK3 fue descrita en el testículo de ratón y humano (Visconti et al., 2001). Los miembros de esta familia desempeñan papeles importantes en la espermatogénesis y la espermiogénesis (Wei et al., 2013). Sin embargo, no hay ninguna referencia que sea de nuestro conocimiento, que haya detectado una funcionalidad en el tracto femenino. Se requiere del estudio más a fondo para determinar el papel que desempeña esta proteína en el tracto femenino.

6.1.1.2.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA2)

En la clasificación SOTA2 se identificaron hasta 1079 transcritos, los cuales se caracterizaron por tener una expresión menor en el tejido oviductal y una sobre expresión en el endometrio. Dentro de este grupo

se encontraron algunos colágenos, que como se mencionó con anterioridad participan en la remodelación del ECM en el endometrio. Tras su clasificación por función molecular, el mayor grupo fue los que se involucran en la unión, hasta 245 genes fueron clasificados que sintetizan proteínas de unión.

Una de las proteínas que se encuentra en esta agrupación es la proteína de unión a la acrosina (ACRBP o sp32). Se sabe que esta proteína de la matriz acrosomal junto con proacrosina actuaría como el sustrato fisiológicamente relevante para la liberación acrosina (Baba et al. 1994). En el cerdo, se observó que los espermatozoides capacitados tienen esta proteína fosforilada en sus aminoácidos tirosina (Dube et al. 2005). Esto también fue observado en el humano (Ficarro et al. 2003). En el cerdo, los espermatozoides después del tratamiento con ionóforo para inducir la reacción acrosómica, perdieron la proteína ACRBP. En los espermatozoides del cerdo se encontró que esta proteína estaba mayormente expresada después de la capacitación (Kwon et al. 2014).

En esta misma especie, se demostró recientemente que junto con la proteína trifosfato isomerasa (TPI) se describen como los dos más importantes marcadores de congelabilidad de los espermatozoides del porcino (Vilagran et al. 2013). En este estudio ACRBP es más abundante en los espermatozoides con mejores índices de congelabilidad. Esta característica puede estar relacionada a la regulación de la reacción acrosómica y en conjunto con la participación que tiene en la maduración de la acrosina. La hipótesis de estos investigadores sugieren que esta proteína regula la capacitación prematura y una exocitosis acrosomal degenerativa (Vilagran et al. 2013). La posible función que podría ejercer esta proteína en el útero sería el de la regulación de la reacción acrosómica, ya que participa en la maduración de la acrosina.

Dada la expresión de este gen tanto en el oviducto como en el útero y su implicación en la liberación de la acrosina tras la RA, esta proteína podría estar implicada en favorecer la RA a nivel del oviducto

en la proximidad del gameto femenino. Sin embargo, desconocemos el posible papel biológico a nivel del útero. Estudios previos han demostrado que el espermatozoide reaccionado es capaz de atravesar el cúmulo ovífero, la ZP y fecundar el ovocito. Este proceso podría ser facilitado a nivel del oviducto. Posiblemente, esta proteína podría acelerar la muerte de los espermatozoides que hayan reaccionado prematuramente a nivel del endometrio.

Dos proteínas de la familia de las anexinas (ANXA5 y ANXA6) se identificaron en esta agrupación. Como se mencionó ya en la revisión bibliográfica, la familia de estas proteínas, participan en la unión a las proteínas BSP de los espermatozoides. Esta familia de proteínas se une a fosfolípidos y proteínas de unión a membrana en presencia de Ca^{2+} (Rescher y Gerke, 2004).

El papel que podrían desempeñar en el útero estas anexinas sería probablemente, el del reclutamiento de espermatozoides en la unión útero tubárica como se ha descrito en la especie porcina (Rodríguez-Martínez et al., 1990, Lovell y Getty 1968). Algo similar a lo sucedido en el istmo oviductal (Suárez et al., 1997). Incluso podrían participar en un proceso de selección de espermatozoides viables, como anteriormente se describió en el porcino (Taylor et al., 2008). Otro estudio describió que los espermatozoides porcinos que se unían a las células epiteliales del útero mostraban una ultraestructura normal, a diferencia de los espermatozoides que no se unían y presentaban una membrana plasmática dañada (Rodríguez-Martínez et al., 1990).

La apolipoproteína AI (APOA1) también fue identificada en esta agrupación SOTA2. Anteriormente se había descrito la expresión de este gen en el útero bovino, en el estro y en novillas gestantes (día 13 a 19) que es la fase de elongación del embrión (Forde et al., 2013). La proteína APOA1 como la ACRBP también fue identificada por electroforesis en dos dimensiones como altamente (> 3 veces) expresada en espermatozoides capacitados del verraco (Kwon et al., 2014).

Se informó en el bovino que APOA1 induce la pérdida del colesterol de la membrana plasmática de los espermatozoides (Ehrenwald et al., 1990), esta pérdida del colesterol regula múltiples procesos como la motilidad, la hiperactivación y capacitación (Travis y Kopf 2002). También fue descrito que APOA1 esta asociada a la lipoproteína de alta densidad (HDL) que desencadena la reacción acrosómica (Therien et al., 1997). Se conoce como una proteína contenida en el plasma seminal que afecta a la unión del espermatozoide, de ovocitos y la fertilidad masculina. Estudios en el porcino demostraron que la proteína APOA1 se encontró en los espermatozoides maduros una vez que se había eliminado completamente el plasma seminal (Kwon et al., 2014). Nuestra hipótesis sugiere que la presencia de esta proteína en el tracto femenino podría estar relacionada con la regulación de la pérdida de colesterol y por tanto participar en los procesos de motilidad, hiperactivación y la capacitación espermática.

Otra proteína de interés reproductivo identificada en SOTA2 fue la enzima glutatión peroxidasa 4 (GPX4). Se ha descrito que esta proteína protege a las células de la peroxidación lipídica. Además participa en la maduración del espermatozoide humano mediante la inhibición de la lipoxigenasa (Li y Zhang 2013). Se sabe que las proteínas de esta familia (GPXs) han sido descritas en la cabeza de los espermatozoides y las mitocondrias de la cola (Puglisi et al., 2005). Al ser proteínas estructurales de los espermatozoides, explicaría que la baja expresión en humanos deriva en oligoastenozoospermia. Se observó que esta disminución en la expresión de GPX4 en los espermatozoides produce una disminución en la fertilidad del 10% (Williams y Ford 2005).

La enzima GPX4 protege a la membrana mitocondrial y mantiene la producción de ATP bajo condiciones de estrés oxidativo. El estrés oxidativo disminuye la producción de ATP y como consecuencia la disminución en la motilidad y viabilidad espermática (O'Flaherty et al.,

2006); por lo tanto, GPX4 podría estar participando de forma indirecta en mantener la motilidad del espermatozoide.

Se encontró que la GPX4 (Florian et al., 2001) y la GPX2 (Banning et al., 2008b, Banning et al., 2008a) tienen un efecto inhibitor de la ciclooxigenasa 2 (COX2). Esta enzima es la principal responsable de la producción de la prostaglandina PGE2 por el endometrio bovino a partir del ácido araquidónico. Es junto con la PGF2 α las prostaglandinas primarias que son producidas en el endometrio bovino, durante el ciclo estral (Arosh et al., 2002). Se observó en los espermatozoides humanos que la incubación con PGE2 con bajos niveles fisiológicos indujo un aumento en los niveles de calcio intracelulares de los espermatozoides y aumentó en el porcentaje de espermatozoides unidos a ZP (Rios et al., 2014).

Por tanto, se puede asumir que alguna de las proteínas de la familia GPXs están asociadas a diferentes procesos reproductivos y que pueden llevarse a cabo en el endometrio, de manera que mantendría la viabilidad de los espermatozoides en condiciones de estrés oxidativo y actuarían de manera indirecta regulando la producción de prostaglandinas en el endometrio bovino.

Las diferencias de expresión de los diferentes tipos de GPXs en los tejidos reproductivos; sugieren que cada una de estas enzimas, tienen una funcionalidad específica de acuerdo a su localización en los diferentes órganos reproductivos. Esta proteína y otras de la familia de las GPX han sido descritas en exosomas presentes en la orina de humano (Prunotto et al., 2013), por lo que se sugiere que pueden ser secretados por la vía de exosomas en los fluidos del tracto reproductor femenino y conferir protección ante la oxidación lipídica.

6.1.1.3.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA3)

El agrupamiento SOTA3 refleja una mayor diferencia entre la baja expresión observada en las muestras de oviducto en comparación con las de endometrio. En este grupo se identificaron 412 transcritos, una

vez hecha la clasificación por funcionalidad se obtuvieron 83 genes que sintetizan a proteínas de unión, 42 de localización y 41 de proceso de organismo multicelular. Estos grupos no se discutirán debido a lo general de su clasificación; Sin embargo, el siguiente grupo fue el de hidrolasas (38 transcritos). Este grupo se analizará con más profundidad, cabe destacar la presencia de algunas hidrolasas lisosomales como FUCA1, HYAL1, GNS y RNASE6.

La proteína alfa-L-fucosidasa tisular (FUCA1) permite la liberación de los residuos fucosa unidos a la cadena oligosacáridica. Se ha descrito que la deficiencia de esta enzima en el humano produce la acumulación de glicoconjugados que contienen fucosa, que conducen a la acumulación de estos en diversos tejidos llevando a la denominada fucosidosis (Willems et al., 1999).

Desde el punto de vista reproductivo este gen se ha descrito anteriormente por nuestro laboratorio en el testículo y oviducto de la especie porcina (Genbank: JF932294.2); así, como en los espermatozoides en esta misma especie (De Ondiz 2011) y en la rata (Abascal et al., 1998, Avilés et al., 1996). En trabajos realizados en cerdo (*in vitro*) se pudo observar que los residuos de alfa-L-fucosidasa de la ZP y espermatozoides interactúan. Se ha propuesto que FUCA1 de los espermatozoides tiene una actividad hidrolítica durante la penetración de la ZP en la fecundación (Song et al., 2007). Recientemente se observó en los espermatozoides del cerdo *in vitro* que alfa-L-fucosidasa puede actuar sobre los espermatozoides mediando los eventos asociados a la capacitación y así aumentar su capacidad para penetrar la ZP (Romero-AguirreGómezcorta et al., 2015). En este mismo trabajo, se observaron aumentos significativos en la fosforilación, en el segmento ecuatorial y en la cabeza del espermatozoide porcino después del tratamiento con alfa-L-fucosidasa. Este patrón se había observado con anterioridad en los espermatozoides capacitados en la especie bovina (Gualtieri et al. 2005).

Esta enzima también ha sido descrita en el fluido oviductal de bovino (Carrasco et al. 2008a) y porcino (Carrasco et al. 2008b). Estas investigaciones sugieren la posible actuación de la alfa-L-fucosidasa sobre los residuos de fucosa y por la liberación de los espermatozoides en el reservorio del oviducto (Hunter 2005). Algo similar podría ocurrir en el endometrio donde podría participar en la liberación de los espermatozoides de la unión útero tubárica (Rodríguez-Martínez et al., 1990, Lovell y Getty 1968, Taylor et al., 2008). Otra posible función en el útero bovino, estaría dada por su participación en la activación de la motilidad de los espermatozoides mediante la captación de bicarbonato como se describió con anterioridad (Brandt et al. 2006) y por último participar en los eventos de fosforilación y mediar en la capacitación de los espermatozoides, eventos que anteriormente se han descrito y pueden suceder en el útero (Parrish et al., 1989).

El ácido hialurónico (HA), es un componente habitual de la matriz extracelular del tejido conjuntivo. Este glicosaminoglicano es degradado por una familia de enzimas llamadas hialuronidasas (HYALs) (Raheem et al., 2013, Martín-DeLeon 2011). Se ha descrito en el ratón y en la especie humana que HYAL1, HYAL2 y HYAL3 participan en varias funciones de la reproducción femenina especialmente en la atresia folicular ovárica. Esta función también fue descrita en la especie porcina además de su participación en la apoptosis de las células de la granulosa (Orimoto et al., 2008).

Otra función reproductiva que se ha descrito a esta familia es la dispersión de las células del *cumulus oophorus*, tal es el caso de la enzima hialuronidasa Spam1 del ratón (revisado por Martín-DeLeon 2011). Previamente, se ha descrito la presencia de esta hialuronidasa en la vagina y útero de ratón (Zhang y Martín-DeLeon 2003b) y se demostró que son adquiridas por los espermatozoides en el tracto femenino. Por tanto, nuestra hipótesis es que estas proteínas serían adquiridas por los espermatozoides en el tracto femenino y

enriquecerían o podrían cubrir las posibles deficiencias de las hialuronidasas.

Otro de los transcritos agrupados en SOTA3 es el inhibidor plasmático de serín proteasas (SERPINA5 o PCI), este gen sintetiza a una proteína que pertenece a la familia de las proteínas que inactivan las serín proteasas (Uhrin et al., 2007). La proteína SERPINA5 inhibe gran cantidad de proteasas, algunas de estas que son de interés reproductivo, son la acrosina del espermatozoide (Hermans et al., 1994, Zheng et al., 1994), urokinasa (PLAU) (España et al., 1989, Geiger et al., 1989, España et al., 1993) y el activador tisular del plasminógeno (PLAT) (España et al., 1989, España et al., 1993). Este último también agrupado en esta clasificación SOTA3.

PLAU y PLAT se han descrito como proteínas contenidas en semen de ratones (Huarte et al., 1987) y de humano (Vandreden et al., 1991). La SERPINA5 en conjunto con PLAU y PLAT forma complejos. Se presume que la SERPINA5 regula la actividad proteolítica en el fluido seminal inhibiendo la actividad proteolítica de PLAT (Uhrin et al., 2007). SERPINA5 ha sido descrita en el aparato genital masculino como en los túbulos seminíferos del testículo y epidídimo (Zheng et al., 1994, Laurell et al., 1992, Uhrin et al., 2007). Se demostró que los ratones knockout homocigotos de SERPINA5 eran infértiles, presentaban espermatozoides malformados e incapaces de fecundar a los óvulos (Uhrin et al., 2000). Esto se demostró cuando se detectó la presencia de una SERPINA5 carente de función para inhibir la actividad proteasa de PLAU y PLAT (He et al., 1999) y se observó que esta falta de funcionalidad de SERPINA5 estaba asociada a la infertilidad. Sin embargo, también se descubrió que ratones nulos en PLAT y PLAU no revertían la infertilidad (Carmeliet et al., 1994).

Por lo tanto, hasta el momento se desconoce si SERPINA5 puede participar por otra vía que afecte la capacidad fecundante; independientemente de sólo el bloqueo de la actividad proteolítica de PLAT y PLAU. Además, desconocemos el efecto de la inhibición de

acrosina a nivel uterino mediado por SERPINA5. Esta inhibición podría evitar el daño producido por acrosina y otras proteasas acrosomales a nivel uterino por aquellos espermatozoides que sufren una RA espontánea y prematura (Yamagata et al. 1998).

6.1.1.4.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA4)

El cuarto agrupamiento tipo SOTA, identificó 97 transcritos diferentes. Este grupo se caracterizó por una menor expresión en los tejidos oviductales en comparación con el tejido endometrial. Una vez hecha la clasificación por funcionalidad, los grupos más numerosos fueron los genes involucrados en la regulación de procesos biológicos.

Dentro de este grupo se identificó el ARNm de BMP4. El gen BMP4 pertenece a un grupo de genes que codifican proteínas que son miembros de la súper familia del factor de crecimiento transformante β (TGF). Se ha detectado la expresión de ARNm en la teca, cuerpo lúteo, y el epitelio superficial del ovario de rata (Erickson y Shimasaki 2003). En el tracto femenino del ratón se detectó su expresión en el epitelio oviductal y uterino; sin embargo, el análisis inmunohistoquímico mostró una mayor expresión en el epitelio endometrial especialmente en la fase del estro (Tanwar y McFarlane 2011).

En la especie bovina se describió la presencia de ARNm en las células de la granulosa y células de la teca (Fatehi et al., 2005). Otra investigación sugirió que BMP4 participa activamente en el mantenimiento del endometrio (Tanwar y McFarlane 2011). En el tracto masculino BMP4 se expresa en el testículo y epidídimo de ratón. Los ratones machos BMP4 knockout mostraron una fertilidad comprometida, una disminución en el número de los espermatozoides y de su motilidad, así como una degeneración de las células epiteliales del epidídimo (Hu et al., 2004). Todo ello sugiere que la familia de BMPs y la BMP4 en particular, intervienen en algunos procesos de la reproducción masculina y femenina, Sin embargo, se requiere de investigaciones a fondo que esclarezcan su participación en la reproducción.

6.1.1.5.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA5)

El penúltimo grupo de clasificación es el SOTA5 se caracteriza por tener una baja expresión en los transcritos del oviducto y una sobreexpresión muy evidente en el endometrio, este contiene 21 genes.

Dentro de este grupo se identificó el ARNm de un gen que codifica la proteína carboxipeptidasa E (CPE), es una proteína secretada que se encuentra en el plasma seminal humano y en el lisado de espermatozoides (Kumar et al., 2014). Sin embargo, se desconoce el origen del tejido que la produce en el varón. Se ha observado que la presencia de esta proteína en el semen humano cumple con una función antibacteriana contra *Escherichia coli* (Kumar et al., 2014), donde se observó que a una concentración de 20-100 $\mu\text{g/ml}$ tiene una alta capacidad para matar a esta bacteria.

Se ha demostrado igualmente que esta proteína tiene alta afinidad por heparina siendo incluso mayor que la observada con lactoferrina (LF) y la semenogelina (SGI) (Kumar et al., 2012). Esta unión a heparina ha sido descrita en otras proteínas de las glándulas accesorias del tracto masculino, se observó que cuando son aisladas por cromatografía de afinidad y posteriormente son incubadas con los espermatozoides, potencian la capacitación y la capacidad de responder a la ZP durante la reacción acrosómica (Miller et al., 1990). Se asume que esta misma interacción puede tenerla en el tracto femenino debido a la presencia de heparina y por lo tanto intervenir en regular algunos procesos de la fecundación. Así como proporcionar un ambiente libre de bacterias después de la monta o IA.

6.1.1.6.- Agrupamiento basado en los perfiles de expresión (SOTA6)

El sexto y último grupo SOTA, también incluía a transcritos con una mayor expresión en el endometrio en comparación con el tejido oviductal. Esta clasificación está formada por 40 genes.

Uno de los genes identificados en este grupo fue el péptido natriurético tipo C (NPPC). En ratas se observó una mayor expresión en

el útero en la fase del proestro (Huang et al., 1996). Respecto al papel que desempeña en el ovario, se sugiere que podría modular la atresia folicular. Se descubrió que fue capaz de disminuir la atresia, que aparece en la transición de folículos preantrales a antrales (McGee et al., 1997). Igualmente se ha descrito en el tracto masculino, así, tanto NPPC como su receptor se expresan en el testículo humano (Middendorff et al., 2000).

Algunas acciones paracrinas de esta proteína incluyen la relajación de los túbulos seminíferos para facilitar el transporte de los espermatozoides (Middendorff et al., 1997). En conjunto con su receptor y guanosín monofosfato cíclico (cGMP), NPCC conduce a una variedad de efectos en el testículo, tales como la modulación de la motilidad de los espermatozoides, el desarrollo testicular de células germinales y la síntesis de testosterona (Middendorff et al., 2000).

Recientemente, se ha descrito el papel que desempeña esta proteína en la espermatogénesis de la rata, regula la barrera dinámica del paso de la sangre al testículo y también promueve la función endocrina de las células de Sertoli (Huang et al., 2011). Hasta el momento no se ha descrito su presencia en los fluidos reproductivos. Las funcionalidades de esta proteína estarían asociadas al mantenimiento de la homeostasis de los fluidos reproductivos debido a su capacidad vaso reguladora.

6.1.2.- Expresión diferencial entre la ampolla y la unión istmo-ampular del oviducto.

Los resultados obtenidos del análisis de datos de micromatrices de las células epiteliales de las dos regiones del oviducto (ampolla y

unión istmo-ampular) no mostraron grandes diferencias en el transcriptoma en comparación los genes expresados a nivel endometrial. Estos resultados nos indican que la similitud es muy alta entre las porciones del oviducto estudiadas. Hasta la fecha no existe ningún estudio similar que nos permita realizar una comparación con nuestros datos. No hay evidencias de trabajos realizados que determinen una expresión diferencial entre diferentes regiones del oviducto.

Se puede asumir que las escasas diferencias de expresión entre la región ampular y la unión istmo-ampular podrían darse por el cambio de relación entre el número células secretoras y ciliadas en dichas regiones. Sin embargo, este dato tampoco puede ser fundamentado por falta de referencias en el análisis de la caracterización y de porcentajes que representas en el tejido oviductal las células secretoras y ciliadas en las regiones del oviducto.

6.1.3.- Clasificación funcional de transcritos identificados que sintetizan a proteínas secretadas

Otro enfoque de este estudio fue el determinar mediante el análisis de micromatrices la expresión del transcriptoma del endometrio y del oviducto, esto con la finalidad de establecer los genes que codifican para proteínas secretadas. Pero debido a la diferente composición celular de los tejidos de estudio, se tuvieron que considerar algunos factores. Las muestras de oviducto están compuestas por células epiteliales y la mayoría de ellas son de secreción activa durante el estro. En contraste las células luminales y glandulares del endometrio contribuyen a las secreciones dentro del lumen uterino. Adicionalmente en el endometrio se encuentran otro tipo de células, tales como los fibroblastos (secretoras de colágenos y ECM), células endoteliales y varias células inmunes que también pueden mostrar actividad secretora. Así, el porcentaje de células secretoras de proteínas en el oviducto y útero es probablemente diferente. Por

ejemplo, se estimaría una relación de células secretoras de 1:2 (útero: oviducto). En base a estas reflexiones, se determinó que el corte para determinar los transcritos exclusivos de cada tejido y los compartidos fue de un fold change $\log_2 \geq 4$.

Un total de 5509 transcritos fueron los que se expresaban en el oviducto y endometrio bovino, 5160 fueron comunes. Se determinó que la mayoría después de su clasificación por funcionalidad, pertenecían a funciones vitales de las propias células. 61 genes fueron descritos como expresados únicamente por los tejidos oviductales y 288 por el endometrio. De los 5160 genes, 175 fueron clasificados como que sintetizan a proteínas secretadas y de matriz extracelular. Estas son en las que prestamos más atención debido a la posible función que tienen en la interacción con el espermatozoide una vez en tracto genital femenino.

Dentro de los grupos más numerosos de categoría funcional se encuentran los clasificados como respuesta a estímulos, aquí se agrupan diferentes quimiocinas. Esta familia de proteínas se ha descrito que participa en la inmunidad innata conferida por el tracto genital femenino (Amjadi et al., 2014). Se conoce que cumple una función de reclutar y activar leucocitos en sitios de inflamación (Salamonsen et al., 2007). Las concentraciones de citocinas y quimiocinas pueden variar en el endometrio durante los procesos fisiológicos normales, así como las condiciones patológicas, como la infección y la endometriosis (Fahey et al., 2005).

Una de esta enzimas, la quimiocina ligando 2 (CCL2 o MCP1) en el útero puede inducir la expresión de ATP6V0A2 (Jaiswal et al., 2012). Esta proteína se describió en el líquido seminal del hombre como la proteína mayormente expresada en los varones fértiles en comparación con los infértiles, característica compartida con la proteína 2NTD (Ota et al., 2013). Adicionalmente, esta misma investigación determinó que la expresión del ARNm y la proteína ATP6V0A2 en los espermatozoides de varones infértiles era significativamente menor en comparación con los

espermatozoides de varones fértiles. Las conclusiones sugieren que ATP6V0A2 puede ser necesaria para las funciones normales de los espermatozoides, por lo tanto, podría servir como un marcador de fertilidad masculina (Ota et al., 2013). Este gen, en nuestro estudio fue clasificado como expresado en el oviducto y endometrio, por su localización encontramos que está presente en la membrana plasmática y en los lisosomas.

La clasificación de los transcritos que sintetizan proteínas secretadas y que consideramos como exclusivos del endometrio fueron 101, de los cuales 13 han sido descritos con anterioridad que participan en la vía de adhesión focal (COL1A2, COL3A1, COL4A1, COL4A2, COL5A3, COL6A1, COL6A2, FN1, LAMC3, PGF, COL6A3, TNC, TNXB) y con la vía de la interacción ECM-receptor. Estas dos vías se habían discutido con anterioridad. Estas funciones coinciden con los anteriormente publicados en la fase del estro de la especie bovina (Mitko et al., 2008), así como en el endometrio de la yegua en el día 0 del ciclo estral (Gebhardt et al., 2012).

La clasificación de los transcritos que sintetizan proteínas secretadas y que consideramos como exclusivos del oviducto fueron 18, dentro de los que se incluye la proteína mayormente expresada en el oviducto, OVGP1 y CFH.

6.2.- PROTEOMA DEL OVIDUCTO Y ENDOMETRIO EN LA ESPECIE BOVINA

Se ha demostrado que la mucosa oviductal bovina sufre cambios sustanciales dependiendo de la fase del ciclo estral (Yaniz et al., 2000). Esta mucosa ofrece un complejo sistema de regulación que puede influir no sólo en el paso de los gametos y embriones, sino también, en la producción del fluido para períodos específicos antes y después de la ovulación, para proporcionar el microambiente necesario de la

capacitación del espermatozoide, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano (Buhi 2002).

Durante la fase folicular, los estrógenos son esenciales para la diferenciación del epitelio y la maduración de las células secretoras. El contenido luminal o fluido oviductal es el resultado de la producción de proteínas por el epitelio secretor del oviducto y del trasudado del suero sanguíneo (revisado por Leese 1988, Buhi et al., 2000, Avilés et al., 2010). El proteoma del fluido uterino está compuesto de proteínas derivadas de la sangre y también secretadas por el epitelio uterino (Roberts y Parker 1974, Faulkner et al., 2013, Alavi-Shoushtari et al., 2006). Al igual que en el oviducto, en el endometrio las variaciones en la producción de fluido son dependientes de los niveles hormonales de las diferentes fases del ciclo estral.

La fase del ciclo estral de nuestro estudio, es la fase periovulatoria, de manera que podríamos determinar el microambiente que proporciona el tracto femenino a los espermatozoides tras la monta o la inseminación y cómo este interactúa con los espermatozoides, desde que son depositados, hasta el momento de la fecundación.

Los resultados obtenidos a partir de geles SDS-PAGE en dos dimensiones (2D) nos permitieron calcular la media de proteínas presentes en el fluido oviductal y fluido uterino en la fase periovulatoria. La media de "spots" presentes en el fluido oviductal fue de 458 y para el fluido uterino de 242. Como se mencionó en la revisión bibliográfica, existen escasos estudios que se hayan realizado para establecer el proteoma general de estos fluidos reproductivos. Y aún menos los que hayan abordado la identificación de proteínas a partir de geles en 2D. Algunos estudios a partir de células epiteliales oviductales porcinas identificaron 40 proteínas por electroforesis en geles de 2D y 276 proteínas por la técnica de identificación de proteínas multidimensional (MudPIT) (Sostaric et al., 2006). Sin embargo, sí que hay numerosas revisiones que se han encargado de describir y detallar

el contenido del fluido oviductal de los mamíferos (Buhi et al., 2000, Killian 2004, Avilés et al., 2010).

En contraste, en el útero, si que se pueden encontrar algunos trabajos en la especie bovina donde se describe el proteoma del fluido uterino, sin embargo, todos ellos estudian el proteoma en las fases cercanas a la implantación (Faulkner et al., 2013, Beltman et al., 2014, Forde et al., 2014). Algunos otros del proteoma en la fase del desarrollo embrionario temprano (Muñoz et al., 2012a) y algunos el efecto de los embriones sexados sobre las modificaciones el proteoma del útero bovino (Gómez et al., 2013). Estos dos últimos utilizaron la técnica de electroforesis en 2D. Estos trabajos nos permitieron comparar en medida de lo posible, nuestros datos con los anteriormente publicados. Cabe mencionar que algunas de las proteínas identificadas en nuestro estudio, HSPA5, ENO1, ENO2, PEPB1, PRDX6, PARK7 y GSTP1 habían sido ya identificadas en los por otros autores (Muñoz et al., 2012a, Gómez et al., 2013).

Otros trabajos que tomamos como referencia fueron los que describen el proteoma del plasma (D'Ambrosio et al., 2005) y del suero sanguíneo de la especie bovina (Wait et al., 2002). Estos nos sirvieron como referencia para identificar aquellos "spots" que son procedentes del trasudado sanguíneo y son comunes a los que se encuentran en los fluidos reproductivos del bovino

El análisis de imagen de los geles de electroforesis 2D nos permitió reconocer las proteínas más abundantes del fluido oviductal y uterino. La proteína más abundante en ambos fluidos fue la albúmina sérica (ALB o BSA). La proteína ALB en el fluido oviductal representa el 21% del total de proteína y hasta un 42% en el fluido uterino. La ALB aparece en el fluido oviductal en concentraciones comparables a las del suero. Se sabe que la ALB interviene en la pérdida de colesterol presente en la membrana plasmática de los espermatozoides (Yanagimachi, 1994, Cross 1998, Visconti et al. 2002, Florman et al., 2006).

La proteína ALB media este proceso de la pérdida del colesterol gracias a su actividad de unión a esteroides (Go y Wolf 1985), pero no sólo ALB tiene esta característica. La pérdida del colesterol provocada por la albúmina es regulada en la vagina por la proteína glicodelina-S, que se encuentra presente en grandes cantidades en el plasma seminal; sin embargo, esta se va eliminando durante el paso de los espermatozoides a través de la moco cervical (Chiu et al. 2005). Por lo tanto, la gran cantidad de albumina contenida en el fluido y la pérdida de la glicodelina-S, participan en el inicio de la capacitación espermática del espermatozoide humano (Yeung et al. 2009). En los espermatozoides de toro permanecen factores decapacitantes, como las proteínas de la familia BSP (Chandonnet et al. 1990), estas y otros factores regulan la capacitación de los espermatozoides hasta el momento adecuado para que la fecundación tenga lugar.

6.2.1.- Proteoma del fluido oviductal

Al agrupar por funcionalidad las proteínas más abundantes contenidas en el fluido oviductal nos encontramos que 10 de ellas se incluyen dentro de respuesta al estímulo (ACTG1, PDIA6, P4HB, CALR, ENO3, STIP1, EPHX2, PDIA3, GAPDH, ENO1) y 10 como proteínas de unión (ACTG1, ACTG2, ALB, CALR, HSPA5, PEBP1, P4HB, PDIA3, TPPP3 y HSP90B1). De este último grupo ha sido descrita la proteína chaperona HSPA5 en cultivo de células epiteliales del oviducto bovino (Boilard et al., 2004). Esta proteína denominada también GRP78 o proteína de unión a inmunoglobulina (BiP) fue previamente descrita mediante análisis de expresión de ARNm en el oviducto bovino, donde se observó que su expresión fue incrementada hasta 6 veces durante el estro en comparación con otras fases (Bauersachs et al., 2004).

Otros estudios hacen referencia a esta proteína localizada en las células epiteliales de oviducto de vaca (Boilard et al., 2004), cerda (Sostaric et al., 2006, Yeste et al., 2014), ratón (Lin et al., 2012) y humano (Marin-Briggiler et al., 2010). En una revisión hecha por nuestro grupo se observó que la expresión de este gen es común en el oviducto de

tres especies: cerda, mujer y vaca (Mondejar et al., 2012). En el ratón, se observó por inmunohistoquímica que la presencia de HSPA5 era mayor en la fase del estro (Lin et al., 2012) datos que coinciden con los resultados obtenidos en la especie bovina (Bauersachs et al., 2004) y el útero de rata (Simmons y Kennedy 2000).

Se observó una interacción directa de esta proteína presente en el oviducto y los espermatozoides. Se observó en células epiteliales de bovino que la HSPA5 y la HSPA60 se unen a los espermatozoides (Boilard et al., 2004). Al incubar la proteína recombinante de HSPA5 con espermatozoides de humano, mostró la capacidad de unión a la región acrosomal del espermatozoide y esta unión condujo a una disminución en el número de espermatozoides unidos a la ZP (Marin-Briggiler et al., 2010).

Otro efecto que muestra la proteína contenida en el lumen oviductal, fue que afectó significativamente la fosforilación de tirosina y aumento de los niveles de calcio intracelulares del espermatozoide durante la capacitación (Lachance et al., 2007). Esta interacción entre los espermatozoides y las células epiteliales del oviducto porcino, demostró que el co-cultivo indujo el aumento significativo de expresión de HSPA5 y HSP90AA1 por parte de las células epiteliales (Yeste et al., 2014).

Adicionalmente ha sido descrita en el espermatozoide (Bohring y Krause 2003, Naaby-Hansen y Herr 2010), plasma seminal (Miller et al., 1992, Pilch y Mann 2006), testículo y epidídimo de humano (Lachance et al., 2010). En el tracto masculino se ha descrito su participación en la espermatogénesis (Huo et al., 2004). Un estudio en ratones knockout GRP78 *-/-*, demostró que GPR78 es esencial para la proliferación de células embrionarias y que protege la masa celular interna de la apoptosis durante el desarrollo embrionario temprano, ya que la ausencia de este gen deriva en muerte embrionaria durante el período peri-implantacional (Luo et al., 2006).

En conclusión se ha demostrado la importancia que tiene esta proteína en diferentes procesos reproductivos como el transporte de gametos, la fecundación y el desarrollo temprano de embrión. Nuestra hipótesis es que el oviducto podría participar en cubrir las posibles deficiencias de esta proteína por parte de los espermatozoides y participar activamente en la interacción entre gametos durante las fases previas y durante la fecundación.

Otra proteína chaperona que se encarga del transporte y procesamiento de proteínas secretadas es la endoplasmina (HSP90B1). Como ya se ha mencionado, se observó su sobreexpresión por las células epiteliales del oviducto porcino tras el co-cultivo con espermatozoides (Yeste et al., 2014). También con anterioridad había sido descrita en el oviducto porcino (Seytanoglu et al., 2008). Esta proteína se ha descrito en el modelo murino y se sabe que participa en el plegamiento de proteínas y el ensamblaje de complejos de proteínas multiméricas (Walsh et al., 2008).

Se observó en el útero bovino que esta proteína tiene variaciones en su patrón de expresión en el período cercano a la implantación (Forde et al., 2014). Se detectó su presencia en la cabeza de los espermatozoides de ratón durante la capacitación, lo que sugiere ser de importancia para el reconocimiento de la ZP (Asquith et al., 2004, Maselli et al., 2014).

6.2.2.- Proteoma del fluido uterino

Posterior al análisis de imagen de los geles 2D del fluido luminal del útero bovino, se identificaron 18 "spots" que equivalen a 14 proteínas diferentes, las cuales representan el 53% de la proteína total. Una vez realizada la clasificación funcional, encontramos que 8 de ellas han sido descritas con actividad catalítica (AKR1B1, ALDOA, ALDOC, ENO1, ENO3, IDH1, CKB, TPI1) y 5 de ellas también se agruparon como actividad de glicolisis (ALDOA, ALDOC, ENO1, ENO3, TPI1).

A continuación vamos analizar con más detalle estos hallazgos. Una de las proteínas más abundantes en el fluido uterino bovino es la aldosa reductasa AKR1B1. Esta proteína pertenece a la familia aldo-ceto reductasas. Esta familia está involucrada en el proceso de desintoxicación por compuestos de carbonilo citotóxicos (Takahashi et al., 1995). Esta proteína se ha descrito en el endometrio bovino y se ha descrito su participación en la inactivación de la progesterona y la síntesis de PGF₂ (Madore et al., 2003, Bresson et al., 2011).

La concentración de AKR1B1 en el endometrio bovino fue mayor en comparación con el plasma bovino (Faulkner et al., 2012), datos que coinciden con nuestros resultados en la comparativa del fluido uterino *versus* suero. Esta enzima puede también reducir benzaldehído, gliceraldehído, glucosa, y otros compuestos que contienen carbonilo. Se ha descrito esta enzima en el epidídimo de la especie bovina asociada a los epididimosomas pudiendo ser transferida a los espermatozoides (Frenette et al., 2003). En este sentido la presencia de esta proteína en el epidídimo se asocia a la degradación de polioles (Kobayashi et al., 2002). Esta vía se describe como que la aldosa reductasa reduce la glucosa en sorbitol, seguido por su oxidación en fructosa por sorbitol deshidrogenasa. Estos carbohidratos se han descrito como fuentes de energía que puede ser utilizada por los espermatozoides (Murdoch y White 1968, Frenette et al., 2004).

Adicionalmente, esta vía de los polioles también ha sido descrita en el oviducto bovino (Larose et al., 2012). Por lo tanto esta enzima podría afectar la motilidad espermática a nivel epididimario y uterino; además de protegerlos en ambos órganos contra los compuestos de carbonilo.

6.2.3.- Comparativa del proteoma del oviducto y endometrio en la especie bovina

El análisis comparativo entre las muestras de fluido oviductal y uterino bovino indica que al menos 11 "spots" que representan 10

proteínas (TPPP3, HSPA5, ANXA8, HSP90B1, LZTFL1, PDIA6, ANXA1, TUBB5, P4HB, PDIA3) están diferencialmente aumentadas en el fluido oviductal en comparación con el fluido uterino.

La proteína tubulina miembro de la familia de proteínas que promueven la polimerización 3 (TPPP3) se encontró en mayor cantidad diferencial, ya que se mostró hasta 421 veces más aumentada en el fluido oviductal *versus* fluido uterino. Sin embargo, esta proteína hasta el momento no se ha descrito que tenga una relación con los procesos reproductivos, se sabe que enlaza tubulina y tiene actividad de la agrupación de microtúbulos y que puede desempeñar un papel en la proliferación celular y la mitosis dada la implicación de los microtúbulos en estos procesos (Zhou et al., 2010, Vincze et al., 2006).

Esta diferencia de entre la mayor cantidad de la familia de las tubulinas en el fluido oviductal *versus* uterino, esto se debería por la gran cantidad de células epiteliales ciliadas que conforman el epitelio oviductal. La presencia en el fluido podría ser consecuencia por la renovación de este tipo de células ciliadas. Otras dos proteínas previamente discutidas pertenecen a la familia de las proteínas de choque térmico HSPA5 y HSAP90B1.

Otras proteínas pertenecientes a este grupo diferencialmente expresado en el oviducto, son dos proteínas pertenecientes a la familia de las anexinas (ANXAs). Estas ANXAs pueden unirse a fosfolípidos y a proteínas de unión de membrana en presencia de Ca^{2+} (Rescher y Gerke 2004). En el epitelio oviductal bovino se demostró su interacción con las proteínas BSP presentes en la membrana espermática (Ignotz et al. 2007); sugiriendo un importante papel en la formación del reservorio en el istmo de la vaca.

Se informó que la ANXA1 se expresaba durante la maduración *in vitro* de ovocitos bovinos, se observó una sobreexpresión de ANXA1, PLAU, SCT1 y LUM después de la maduración de los ovocitos (Mamo et al., 2011). Otro estudio donde se determinaba la calidad de los complejos ovocito cumulus (COC) de vacas repetidoras, mostró que el

ARNm de ANXA1 y ANXA2 estaban subexpresados en los COC de vacas repetidoras, asociado también a la sobre regulación de la fosfolipasa A2 (Puglisi et al., 2013). Anteriormente se había descrito la interacción de ANXA1 con la fosfolipasa A2, donde ANXA1 se describe como un regulador negativo de la fosfolipasa A2 (Lim y Pervaiz 2007). Nuestros resultados de Western-blot con anticuerpo anti-ANXA1 bovino, demostraron la expresión de una banda de 37 kDa en el fluido oviductal, sin embargo, en el fluido uterino no se detectó ninguna, lo que coincide con los datos del DiGE. Se sugiere que participa en la conformación del reservorio oviductal, dada la capacidad conocida de esta familia de proteínas de mediar la unión a proteínas BSP.

Otras proteínas de nuestros resultados indican que están mayormente expresados en el oviducto, son dos pertenecientes a la familia de las desulfuro isomerasas, estas son la PDIA3 (ERp57) y PDIA6. La PDIA3 se ha demostrado que juega un papel importante en la fusión del espermatozoide y el ovocito, demostrando que está presente en la membrana de los espermatozoides de ratón, y sugiere que participa en un complejo chaperonas similares a las lectinas (Ellerman et al., 2006).

Esta proteína se ha descrito en el testículo y espermatozoides de rata (Zhao et al., 2013), en testículo de cabra y oveja (Lv et al., 2011). Otros estudios en ratón mostraron por inmunofluorescencia que los espermatozoides capacitados mostraban una mayor intensidad en comparación con los no capacitados (Maselli et al., 2014), este patrón se mostró también para las proteínas HSP90AA1 y HSP90B1. Este mismo estudio demostró que PDIA3, HSP90AA1 y HSP90B1, estaba asociada a la recuperación de la fertilidad después de 9 semanas, en ratones tratados con bleomicina, etopósido, y cisplatino (BEP) (Maselli et al., 2014), tratamiento utilizado en el cáncer testicular y que se sabe afecta la capacidad de la fertilidad debido a su efectos quimiotóxicos.

En humano se observó que PDIA3 está asociada con la fertilidad; ya que pacientes con bajas tasas de fertilidad manifestaban una disminución dramática de la expresión de la proteína PDIA3 (Zhang et

al., 2007). Se observó que la PDIA3 juega un papel relevante en la decondensación de los espermatozoides, reduciendo los puentes disulfuro de protamina en ovocitos porcinos (Li et al., 2014b). Se requieren una investigación minuciosa para determinar el papel que desempeña esta proteína en el oviducto de vaca.

Por otro lado y analizando los "spots" que en nuestro estudio son diferencialmente expresados, en el fluido uterino en comparación con el fluido oviductal, encontramos que 17 mostraban una diferencia mayor a dos veces. Estos 17 "spots" equivalen a 13 proteínas diferentes (AKR1B1, IQGAP1, PSAT1, PHGDH, TF, CKB, HSPD1, ACTG1, ACTG2, PEBP1, ALDOA, ALDOC, SELENBP1).

De estas proteínas identificadas por MS/MS, la proteína AKR1B1 (discutida con anterioridad) es la que mostraba una diferencia de hasta 59 veces más en comparación con el oviducto. Una vez hecho el análisis funcional encontramos que tres de ellas (AKR1B1, ALDOA y ALDOC) se encuentran descritas en la vía del metabolismo de la manosa y fructuosa. Anteriormente se había descrito que la AKR1B1 está involucrada en la vía de los polioles y que se encontraba presente en la cabeza de los espermatozoides de la especie bovina. Nuestros resultados de Western-blot demostraron esta expresión diferencial entre el fluido uterino, donde fue detectada una banda de 37 kDa, en contraste con el fluido oviductal donde no fue detectada.

Se ha descrito también que la proteína ALDOA se encuentra en la cabeza y flagelo de los espermatozoides de humano (Petit et al., 2013). Sin embargo, esta detección no es posible sin la previa incubación con 0,005% de saponina. En este mismo estudio se observó que la incubación de espermatozoides con el anticuerpo anti-ALDOA redujo el número de espermatozoides unidos a ZP (Petit et al., 2013). Por lo que se demuestra que la ALDOA interactúa con la ZP directamente. Esta proteína al contenerse en el flagelo y estar incluida en las vías de la glucólisis y glucogénesis se asocia con la producción de energía asociada al mantenimiento de la motilidad del espermatozoide. En el

ratón se observó la expresión de ALDOA en el epidídimo y se asoció con el aumento de ALDOA, ENO1 y TPI1 (importantes para la producción de energía) en los espermatozoides maduros.

6.2.4- Aportación del suero sanguíneo a los fluidos reproductivos del tracto femenino bovino

El mayor aporte por parte del suero sanguíneo a los fluidos del oviducto y uterino son las albúminas, α -, β -, γ -globulinas y lipoproteínas de alta densidad. Sin embargo, el aporte de las inmunoglobulinas es mayor en el fluido uterino. Esto puede estar asociado al aumento de la motilidad uterina durante el estro y la consecuente entrada de microorganismos, por la dilatación de los órganos reproductores externos de la hembra y la monta del macho. Nuestro estudio del proteoma de fluido oviductal y uterino fue complementado con otros estudios publicados del proteoma suero y plasma sanguíneo. Gracias a esto pudimos identificar algunas inmunoglobulinas (IGHG1, IGHG2, IGL@). Se observó en el endometrio de rata que el número de inmunoglobulinas G y A es máxima cuando los niveles de estrógenos era máxima (Wira y Sandoe 1977). En la especie bovina se sugiere que los cambios cíclicos influyen en el contenido de IgG en el fluido uterino y que pueden ser parte de los mecanismos de defensa contra patógenos (Alavi-Shoushtari et al., 2014).

6.3.- SPAM1 EN LA REPRODUCCIÓN DE LOS MAMÍFEROS

La molécula de la adhesión del espermatozoide 1 (SPAM1) es una proteína de superficie ampliamente conservada en los mamíferos con diferentes funciones reproductivas. Esta proteína inicialmente se describió como exclusiva del tracto genital masculino, habiéndose descrito en el testículo (Zhang y Martin-DeLeon, 2001; Yoon et al., 2014) conductos eferentes, conductos deferentes, próstata, vesículas

seminales (Zhang et al. 2004) y epidídimo (Deng et al. 2000, Zhang y Martin-DeLeon 2003a, Morin et al. 2010). Sin embargo, en el ratón se describió también la expresión de ARNm en el tracto genital femenino (vagina, útero y oviducto) (Zhang y Martin-DeLeon 2003b). La expresión en ambos tractos de esta proteína y las funcionalidades descritas en estos; le confieren una alta relevancia en los procesos reproductivos, en especial el potenciar la capacidad de penetrar el *cumulus oophorus* y la ZP.

Se ha comprobado que la proteína Spam1 de origen epididimario y uterino es adquirida por los espermatozoides tras su tránsito por estos órganos (Zhang y Martin-DeLeon 2003, Zhang y Martin-DeLeon 2003, Zhang et al., 2004). Nuestros datos en la vaca, mujer, cerda y yegua confirmaron que hay expresión de ARNm de SPAM1 en el oviducto de estas especies, demostrando con ello que además del ratón, hay expresión de SPAM1 en el tracto femenino de otras especies de mamíferos, por lo tanto se presume que la participación de SPAM1 en la fecundación es un proceso ampliamente conservado en varias especies de mamíferos.

Estos resultados nos llevaron a investigar si la expresión de ARNm de SPAM1 en el oviducto bovino se traducía a proteína. Por medio de inmunohistoquímica detectamos que esta proteína es expresada por las células epiteliales del oviducto. Anteriormente ya se había descrito por hibridación *in situ* que las células epiteliales del oviducto del ratón, son las que sintetizan Spam1 (Zhang y Martin-DeLeon 2003b).

Los resultados de inmunohistoquímica para TEM, no mostraron un marcaje positivo en las células epiteliales del oviducto bovino. Sin embargo, se observaron dos características importantes. La primera fue que la secreción de SPAM1 en el oviducto no es exclusiva de las células secretoras, que las células ciliadas mostraron también una señal positiva. La segunda fue que observamos que la inmunodetección de las células epiteliales, no está dada mediante la intervención de

gránulos secretores, puesto que observamos que el marcaje es citoplasmático.

Para tener una referencia de una vía clásica de secreción oviductal, realizamos la inmunohistoquímica con anticuerpo anti-OVGP1 y comprobamos que la señal era sólo en células secretoras y se asociaba únicamente a gránulos de secreción.

Se ha comprobado que SPAM1, como otras proteínas ancladas a GPI, utilizan otros medios, como son las vesículas membranosas denominadas exosomas. Este tipo de vesículas se ha descrito recientemente en el tracto genital masculino (epidídimo) y femenino (útero) del ratón. Se observó que transfieren SPAM1 por medio de exosomas a la membrana de los espermatozoides (Griffiths et al., 2008a). Nosotros quisimos comprobar que esta proteína en el fluido oviductal bovino también se asociaba a este tipo de vesículas. Nuestros resultados mostraron mediante MS/MS la presencia de SPAM1 en los exosomas aislados de FOB.

Esto sugiere que en la especie bovina, la transferencia de algunas proteínas ancladas a GPI a los espermatozoides desde el tracto femenino sigue el mismo modelo que en los murinos, mediante la formación de exosomas. Este tipo de transferencia de proteínas había sido comprobado con anterioridad en el útero (Griffiths et al., 2008a) y en el epidídimo del ratón con la proteína Spam1 (Zhang and Martin-DeLeon 2003a) y en el epidídimo de toro con la proteína P25b (Frenette y Sullivan 2001).

La proteína SPAM1 fue descrita en los espermatozoides de la especie bovina (Lalancette et al., 2001, Morin et al., 2010, Morin et al., 2005) detectando por primera vez un banda de 80 kDa, sin embargo, no fue hasta que Morin et al., en el 2010, detectaron otra isoforma de 70 kDa, donde demostraron que dicha variación se encuentra en el extremo C terminal. Esto fue comprobado con la utilización de dos anticuerpos que reconocían los dos extremos terminales de la proteína (C y N). Nuestros datos, a partir de proteína aislada de espermatozoides de

toro, coincidieron con los anteriormente publicados con el anticuerpo que reconoce el extremo N terminal de 80 kDa.

Nuestros resultados obtenidos por Western-blot de la proteína del fluido oviductal mostraron dos patrones de expresión en los diferentes fluidos. Uno de los patrones mostró 3 bandas, una de 80 kDa que coincide con el peso descrito en los espermatozoides y otra banda doble de entre 55 y 60 kDa. El otro patrón es el que sólo muestra la banda doble de 55 y 60 kDa. Estos resultados nos permiten hacer nuestras observaciones en dos sentidos; el primero es que SPAM1 detectada en el FOB muestra diferentes patrones de expresión, la expresión de la banda de 80 kDa no está siempre presente en todas las muestras, lo que sugiere una variabilidad entre individuos.

Se requiere un estudio más detallado para determinar qué efecto reproductivo tiene la presencia o ausencia de esta isoforma de SPAM1 en el fluido oviductal. El segundo punto de análisis de nuestros resultados por Western-blot, fue la presencia en todos los replicados que hicimos de una banda de entre 55 y 60 kDa, que hasta el momento no se había descrito con anterioridad en la especie bovina. Sin embargo, cabe mencionar que esta banda ya había sido detectada en el fluido epididimario del bovino con el mismo anticuerpo que hemos utilizado en la presente tesis doctoral (Morin et al., 2010). Desconocemos por que los autores no consideraron esta banda como SPAM1.

Para determinar que esta banda de 55 kDa no fuese una banda inespecífica, decidimos inmunoprecipitar la proteína SPAM1 del FOB, separarla por electroforesis en gel SDS-PAGE y teñirla con azul de coomassie. Una vez identificada fue recortada e identificada por MS/MS. Esto sugiere que la proteína SPAM1 aislada de FOB es similar a la expresada en el epidídimo bovino demostrándose la existencia de diferentes variantes de la proteína. Son necesarios estudios futuros para explicar a qué se debe el diferente peso molecular y su posible papel biológico.

Una de las funcionalidades reproductivas descritas para la proteína SPAM1, es su capacidad de unión a ZP (Cherr et al., 2001, Hunnicutt et al., 1996). Nuestros resultados demostraron que la proteína SPAM1 aislada de FOB tenía la capacidad de unirse a la zona pelúcida de los ovocitos inmaduros bovino.

Este resultado junto con la capacidad de unión a los espermatozoides de la proteína Spam1 contenida en el útero de ratón (Griffiths et al., 2008a), demuestra que participa activamente en la interacción entre gametos y la unión de estos durante el proceso de fecundación. Futuros estudios permitirán esclarecer la participación de esta proteína en la especie bovina siendo necesario investigar su posible implicación en la hidrólisis del ácido hialurónico presente en la matriz del cúmulo ovífero facilitando la penetración del espermatozoide.

7 CONCLUSIONES CONCEPCIONES?

7.1.- CONCLUSIONES

1. Un total de 5509 genes son expresados diferencialmente en el oviducto y útero bovino en la fase periovulatoria.
2. La expresión génica en el endometrio y el oviducto no es idéntica. Así, 1078 genes mostraron valores de expresión más altos en el endometrio (up-regulated) y 751 mostraron valores más bajos de expresión en la ampolla (down-regulated). El análisis entre endometrio *versus* unión istmo-ampular indicó que 1041 genes fueron up-regulated y 732 fueron down-regulated.
3. Los genes que determinamos como únicos del oviducto ($n=61$) están principalmente relacionados con una actividad catalítica e hidrolasa. En cuanto a los genes únicos del endometrio ($n=288$) resaltamos su implicación en la adhesión focal y remodelación de la matriz extracelular.
4. 175 genes expresados por los tejidos del endometrio y oviducto fueron clasificados como secretados y/o del espacio extracelular. Estos genes están implicados en la unión de proteínas, tienen actividad catalítica y participan en los mecanismos de defensa.
5. El fluido oviductal presenta una mayor complejidad proteica que el fluido uterino en base al análisis electroforético en dos dimensiones, ya que en el fluido oviductal se identifican casi el doble de spots en comparación con el fluido uterino.
6. El análisis proteómico del fluido oviductal y del fluido uterino indica una composición proteica diferente en concordancia con los datos de expresión génica.
7. Las proteínas identificadas por MS/MS comunes entre FOB y FUB se relacionan con procesos biológicos generales y de respuesta al estímulo. Identificamos como específicas del FOB proteínas relacionadas con el choque térmico y proteínas de unión. En el caso del FUB, las proteínas específicas se relacionan con una actividad catalítica y de glicolisis. Las proteínas procedentes del SSB están fundamentalmente implicadas con procesos inmunológicos.

8. La expresión de SPAM1 en el oviducto está conservada en diferentes mamíferos pudiendo modular la interacción entre gametos.

7.2.- CONCLUSIONS

1. A total of 5509 genes are specifically expressed during the periovulatory period at the bovine uterus and oviduct.
2. Gene expression in oviduct and endometrium is not identical. Therefore, 1078 genes showed higher expression values at the endometrium (up-regulated) and 751 showed lower expression values at the ampulla (down-regulated). The comparison endometrium vs. isthmus-ampulla region showed that 1041 genes were up-regulated and 732 were down-regulated.
3. Specific genes of the oviduct ($n=61$) were mainly related with hidrolitic and catalitic activities. However, specific genes of the endometrium ($n=288$) were involved in the focal adhesion and extracellular matrix remodelling.
4. A total of 175 genes expressed at endometrium and oviduct were consideres as secreted and/or belonging to the extracellular region. Proteins encoded by these genes are involved in protein recognition, catalitic activity and defensive response.
5. Two-dimensional electrophoretic analysis revealed a higher protein complexity of the oviductal fluid when compared with the uterine fluid.
6. According to the gene expression data, proteomic analysis indicates a different protein content in the oviduct fluid when compared with the uterine fluid.
7. The proteins identified by MS/MS common between FOB and FUB are related with general biological processes and response to stimulus. Proteins related with heat shock and binding proteins are specific of the FOB; however, proteins with catalytic and glycosis are specific of

the FUB. The proteins from SSB origin are mainly involved in immunological processes.

8. Expression of SPAM1 in the oviduct is preserved throughout different mammalian species. It may modulate interaction between gametes.

Anexo I Proteínas identificadas en el fluido uterino bovino

| Símbolo oficial | Nombre |
|------------------------|---|
| A1BG | Alpha-1-B glycoprotein |
| A2M | Alpha-2-macroglobulin |
| ACADVL | Acyl-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain |
| ACBP | Acyl-coa |
| ACTB | Actin, beta |
| ACTC1 | Actin, alpha, cardiac muscle 1 |
| ACTR2 | ARP2 actin-related protein 2 homolog (yeast) |
| AGR2 | Anterior gradient homolog 2 (Xenopus laevis) |
| AHSG | Alpha-2-HS-glycoprotein |
| AK1 | Adenylate kinase 1 |
| AKR1B1 | Aldo-keto reductase family 1, member B1 (aldose reductase) |
| ALB | Albumin |
| ALDOA | Aldolase A, fructose-bisphosphate |
| ALPL | Alkaline phosphatase, liver/bone/kidney |
| ANPEP | Alanyl (membrane) aminopeptidase |
| ANXA1 | Annexin A1 |
| ANXA2 | Annexin A2 pseudogene 3; annexin A2; annexin A2 pseudogene 1 |
| ANXA3 | Annexin A3 |
| ANXA4 | Annexin A4 |
| ANXA5 | Annexin A5 |
| APOA1 | Apolipoprotein A-I |
| APOA2 | Apolipoprotein A-II |
| ARHGDI1 | Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) alpha |
| ARPC2 | Actin related protein 2/3 complex, subunit 2, 34kda |
| ARSA | Arylsulfatase A |
| AZGP1 | Zinc-alpha-2-glycoprotein |
| B2M | Beta-2-microglobulin |
| BCAT1 | Branched chain aminotransferase 1, cytosolic |
| C3 | Similar to Complement C3 precursor; complement component 3; hypothetical protein LOC100133511 |
| C4A | Complement component 4A (Rodgers blood group) |
| CAP1 | CAP, adenylate cyclase-associated protein 1 (yeast) |
| CAPZB | Capping protein (actin filament) muscle Z-line, beta |
| CFB | Complement factor B |
| CFI | Complement factor I |
| CFL1 | Cofilin 1 (non-muscle) |
| CHGA | Chromogranin A (parathyroid secretory protein 1) |
| CLIC1 | Chloride intracellular channel 1 |
| CLU | Clusterin |
| CMBL | Carboxymethylenebutenolidase homolog (Pseudomonas) |
| CNDP2 | CNDP dipeptidase 2 (metallopeptidase M20 family) |
| CP | Ceruloplasmin (ferroxidase) |
| CST6 | Cystatin E/M |

| | |
|---------------|--|
| CTSD | Cathepsin D |
| CTSL2 | Cathepsin L2 |
| CYC1 | Cytochrome c1 |
| DBI | Diazepam binding inhibitor (GABA receptor modulator, acyl-Coenzyme A binding protein) |
| DDAH2 | Dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2 |
| DMBT1 | Deleted in malignant brain tumors 1 |
| DPYL2 | Dihydropyrimidinase-related protein 2 |
| EEF1D | Eukaryotic translation elongation factor 1 delta (guanine nucleotide exchange protein) |
| ENO1 | Enolase 1, (alpha) |
| ENO3 | Enolase 3 (beta, muscle) |
| ENOA | Alpha-enolasa |
| EZR | Hypothetical protein LOC100129652; ezrin |
| FBP1 | Fructose-1,6-bisphosphatase 1 |
| FGA | Fibrinogen alpha chain |
| FGB | Fibrinogen beta chain |
| FGG | Fibrinogen gamma chain |
| FOLR1 | Folate receptor 1 (adult) |
| FUCA1 | Fucosidase, alpha-L- 1, tissue |
| G6PD | Glucose-6-phosphate dehydrogenase |
| GAPDH | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-like 6; hypothetical protein LOC100133042; glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase |
| GC | Group-specific component (vitamin D binding protein) |
| GDI2 | GDP dissociation inhibitor 2 |
| GM2A | GM2 ganglioside activator |
| GNS | Glucosamine (N-acetyl)-6-sulfatase |
| GPI | Glucose phosphate isomerase |
| GRP | Gastrin-releasing peptide |
| GSN | Gelsolin (amyloidosis, Finnish type) |
| GSTM1 | Glutathione S-transferase mu 1 |
| GSTP1 | Glutathione S-transferase pi 1 |
| HBA1 | Hemoglobin, alpha 2; hemoglobin, alpha 1 |
| HBB | Hemoglobin, beta |
| HDGF | Hepatoma-derived growth factor (high-mobility group protein 1-like) |
| HPX | Hemopexin |
| HSP90AA1 | Heat shock protein 90kda alpha (cytosolic), class A member 2; heat shock protein 90kda alpha (cytosolic), class A member 1 |
| HSP90AB1 | Heat shock protein HSP 90-beta |
| HSPA5 | Hypothetical gene supported by AF216292; NM |
| HSPA8 | Heat shock cognate 71 kda protein |
| HSPB1 | Heat shock 27kda protein-like 2 pseudogene; heat shock 27kda protein 1 |
| IDH1 | Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic |
| IGHC | Ige heavy chain constant region |
| IGL λ | Immunoglobulin light chain, lambda gene clust |
| IGLL1 | Immunoglobulin lambda-like polypeptide 1 |
| ITIH4 | Inter-alpha (globulin) inhibitor H4 (plasma Kallikrein-sensitive glycoprotein) |

| | |
|-----------|--|
| KRT19 | Keratin 19 |
| LDHB | Lactate dehydrogenase B |
| LDHB | L-lactate dehydrogenase B chain |
| LGMN | Legumain |
| LOC522479 | LOC522479 similar to serpin peptidase inhibitor, c |
| LOC617264 | LOC617264 similar to PRDX3 protein |
| LOC780933 | LOC780933 Cationic trypsin |
| LOC784964 | LOC784964 similar to Endopin 1b isoform 1 |
| LTF | Lactotransferrin |
| MDH1 | Malate dehydrogenase 1, NAD (soluble) |
| MGC137014 | MGC137014 Protein HP-20 homolog |
| MGC137211 | Protein HP-25 homolog 2 |
| MIF | Macrophage migration inhibitory factor (glycosylation-inhibiting factor) |
| MSTN | Myostatin |
| NME2 | Nucleoside diphosphate kinase B |
| NUCB1 | Nucleobindin 1 |
| ORM1 | Orosomuroid 1 |
| P4HB | Prolyl 4-hydroxylase, beta polypeptide |
| PAFAH1B3 | Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit gamma |
| PARK7 | Parkinson disease (autosomal recessive, early onset) 7 |
| PCPB1 | Poly(rc)-binding protein 1 |
| PEBP1 | Phosphatidylethanolamine binding protein 1 |
| PEBP4 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 4 |
| PFN1 | Profilin 1 |
| PGAM1 | Phosphoglycerate mutase 1 (brain) |
| PKM2 | Similar to Pyruvate kinase, isozymes M1/M2 (Pyruvate kinase muscle isozyme) (Cytosolic thyroid hormone-binding protein) (CTHBP) (THBP1); pyruvate kinase, muscle |
| PLBD2 | Phospholipase B domain containing 2 |
| PNP | Purine nucleoside phosphorylase |
| PPIA | Similar to trimcyp; peptidylprolyl isomerase A (cyclophilin A); peptidylprolyl isomerase A (cyclophilin A)-like 3 |
| PPIB | Peptidylprolyl isomerase B (cyclophilin B) |
| PRDX1 | Peroxiredoxin 1 |
| PRDX2 | Peroxiredoxin 2 |
| PRDX5 | Peroxiredoxin 5 |
| PRDX6 | Peroxiredoxin 6 |
| PSMA3 | Proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 3 |
| PSMB2 | Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 2 |
| PSMD5 | Proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-atpase, 5 |
| PSME1 | Proteasome (prosome, macropain) activator subunit 1 (PA28 alpha) |
| RBP4 | Retinol binding protein 4, plasma |
| RPSA | Ribosomal protein SA pseudogene 9 |
| S100A11 | S100 calcium binding protein A11 |
| S100A12 | S100 calcium binding protein A12 |
| S100G | S100 calcium binding protein G |
| S10A4 | Protein S100-A4 |

| | |
|------------|--|
| SAO | Primary amine oxidase, liver isozyme |
| SERA | D-3-fosfoglicerato deshidrogenasa |
| SERPINA1 | Serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 1 |
| SERPINA3-1 | Serpin A3-1 |
| SERPINA3-7 | Endopin 2 |
| SERPINA3-8 | Serpin A3-8 |
| SERPINF1 | Serpin peptidase inhibitor, clade F (alpha-2 antiplasmin, pigment epithelium derived factor), member 1 |
| SOD3 | Superoxide dismutase 3, extracellular |
| SYNCRIP | Synaptotagmin binding, cytoplasmic RNA interacting protein |
| TBA1B | Tubulin alpha-1B chain |
| TBB4A | Tubulin beta-4A chain |
| TBB4B | Tubulin beta-4B chain |
| TBB5 | Tubulin beta-5 chain |
| TF | Transferrin |
| TIMP2 | TIMP metalloproteinase inhibitor 2 |
| TKT | Transketolase |
| TPI1 | Triosephosphate isomerase |
| TPM3 | Tropomyosin 3 |
| TUBA1C | Tubulin alpha-1C chain |
| TUBA1D | Tubulin alpha-1D chain |
| TXN | Thioredoxin |
| UBA1 | Ubiquitin-like modifier activating enzyme 1 |
| VCP | Transitional endoplasmic reticulum atpase |
| VPS4B | Vacuolar protein sorting 4 homolog B (S. Cerevisiae) |
| VTN | Vitronectin |
| WARS | Tryptophanyl-trna synthetase |
| WFDC2 | WAP four-disulfide core domain 2 |
| YWHAE | Similar to 14-3-3 protein epsilon (14-3-3E) (Mitochondrial import stimulation factor L subunit) (MSF L); tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, epsilon polypeptide |

Tabla elaborada a partir de datos publicados en: (Faulkner et al., 2012, Gómez et al., 2013, Muñoz et al., 2012a, Beltman et al., 2014)

Anexo II Listado de genes agrupados (SOTA1)

| Símbolo oficial | Acceso | Nombre |
|-----------------|----------------|---|
| AADAC | NM_001075791.1 | Arylacetamide deacetylase (esterase) |
| AARSD1 | NM_001105482.1 | Alanyl-trna synthetase domain containing 1 |
| AATK | XM_588863.5 | Apoptosis-associated tyrosine kinase |
| ABCA4 | NM_174221.2 | ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 4 |
| ABCC4 | XM_002691921.1 | ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 4 |
| ABCG1 | NM_001205528.1 | ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 1 |
| ACBD7 | NM_001113297.1 | Acyl-coa binding domain containing 7 |
| ACOT13 | NM_001101845.1 | Acyl-coa thioesterase 13 |
| ACOX2 | NM_001102015.1 | Acyl-coa oxidase 2, branched chain |
| ACR | NM_173886.2 | Acrosin |

| | | |
|---------|----------------|--|
| ACSL5 | NM_001075650.1 | Acyl-coa synthetase long-chain family member 5 |
| ACSS3 | NM_001102137.1 | Acyl-coa synthetase short-chain family member 3 |
| ACTL8 | XM_002685796.1 | Actin-like 8 |
| ACY1 | NM_001077115.1 | Aminoacylase 1 |
| ADAM21 | XM_002691046.1 | ADAM metallopeptidase domain 21 |
| ADCK3 | NM_001046419.1 | Aarf domain containing kinase 3 |
| ADCY2 | XM_587884.5 | Adenylate cyclase 2 (brain) |
| ADORA1 | NM_174497.3 | Adenosine A1 receptor |
| ADORA2B | NM_001075925.1 | Adenosine A2b receptor |
| ADRBK2 | NM_174500.2 | Adrenergic, beta, receptor kinase 2 |
| ADSSL1 | NM_001099192.1 | Adenylosuccinate synthase like 1 |
| AFTPH | XM_002691387.1 | Aftiphilin |
| AGA | NM_001075511.1 | Aspartylglucosaminidase |
| AGAP3 | XM_868297.3 | Arfgap with gtpase domain, ankyrin repeat and PH domain 3 |
| AGBL5 | NM_001024564.1 | ATP/GTP binding protein-like 5 |
| AGMO | NM_001192973.1 | Alkylglycerol monooxygenase |
| AGPAT4 | NM_001015537.1 | 1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 4 (lysophosphatidic acid acyltransferase-related) |
| AGR2 | NM_001040500.1 | Anterior gradient homolog 2 (Xenopus laevis) |
| AGR3 | NM_001191502.1 | Anterior gradient 3 homolog (Xenopus laevis) |
| AGRN | XM_002694193.1 | Agrin |
| AGTRAP | NM_001075363.1 | Angiotensin II receptor-associated protein |
| AIF1L | NM_001078079.1 | Allograft inflammatory factor 1-like |
| AKAP9 | XM_003582050.1 | A kinase (PRKA) anchor protein (yotiao) 9 |
| AKD1 | XM_002690132.1 | Adenylate kinase domain containing 1 |
| ALDH5A1 | NM_001192735.1 | Aldehyde dehydrogenase 5 family, member A1 |
| ALG13 | XM_003584307.1 | Asparagine-linked glycosylation 13 homolog (S. Cerevisiae) |
| ALG13 | XM_003588141.3 | UDP-N-acetylglucosaminyltransferase subunit |
| ALMS1 | XM_002691212.1 | Alstrom syndrome 1 |
| ALPI | NM_173987.1 | Alkaline phosphatase, intestinal |
| AMN | NM_001077041.1 | Amnionless homolog (mouse) |
| AMY2A | XM_002686164.1 | Amylase, alpha 2A (pancreatic) |
| AMY2B | NM_001035016.1 | Amylase, alpha 2B (pancreatic) |
| ANGEL1 | XM_584939.6 | Angel homolog 1 (Drosophila) |
| ANK2 | XM_002688100.2 | Ankyrin 2, neuronal |
| ANKH | NM_001109793.1 | Ankylosis, progressive homolog (mouse) |
| ANKRD22 | NM_001081579.1 | Ankyrin repeat domain 22 |
| ANKRD29 | NM_001102104.1 | Ankyrin repeat domain 29 |
| ANKRD31 | XM_002690414.1 | Ankyrin repeat domain 31 |
| ANKRD43 | XM_585056.4 | Ankyrin repeat domain 43 |
| ANKRD5 | XM_002692038.1 | Ankyrin repeat domain 5 |
| ANXA1 | NM_175784.3 | Annexin A1 |
| AP1S1 | NM_001077110.1 | Adaptor-related protein complex 1, sigma 1 subunit |
| AP4B1 | NM_001101950.1 | Adaptor-related protein complex 4, beta 1 subunit |
| APBB1 | NM_001075186.1 | Amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family B, member 1 |
| APC | NM_001075986.2 | Adenomatous polyposis coli |
| APOH | NM_173992.1 | Apolipoprotein H (beta-2-glycoprotein I) |

| | | |
|----------|----------------|--|
| AQP4 | NM_181003.2 | Aquaporin 4 |
| AQP6 | XM_002687279.1 | Aquaporin 6, kidney specific |
| ARHGAP24 | NM_001102234.1 | Rho gtpase activating protein 24 |
| ARHGAP25 | NM_001046392.1 | Rho gtpase activating protein 25 |
| ARHGDIG | NM_001076286.1 | Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) gamma |
| ARL6 | NM_001075782.1 | ADP-ribosylation factor-like 6 |
| ARMC12 | XM_613263.5 | Armadillo repeat containing 12 |
| ARMC2 | NM_001075801.2 | Armadillo repeat containing 2 |
| ARMC9 | NM_001046418.1 | Armadillo repeat containing 9 |
| ARRDC5 | NM_001128508.1 | Arrestin domain containing 5 |
| AS3MT | NM_001035023.1 | Arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase |
| ASB11 | NM_001034413.1 | Ankyrin repeat and SOCS box containing 11 |
| ASB14 | NM_001035070.2 | Ankyrin repeat and SOCS box containing 14 |
| ASB15 | NM_174687.2 | Ankyrin repeat and SOCS box containing 15 |
| ASCL4 | XM_612858.2 | Achaete-scute complex homolog 4 (Drosophila) |
| ASGR1 | NM_001037590.1 | Asialoglycoprotein receptor 1 |
| ASGR2 | NM_001075952.1 | Asialoglycoprotein receptor 2 |
| ASNS | NM_001075653.1 | Asparagine synthetase (glutamine-hydrolyzing) |
| ASRGL1 | NM_001077035.1 | Asparaginase like 1 |
| ATF3 | NM_001046193.1 | Activating transcription factor 3 |
| ATF5 | NM_001192422.1 | Activating transcription factor 5 |
| ATG13 | NM_001076812.1 | ATG13 autophagy related 13 homolog (S. Cerevisiae) |
| ATP8B2 | NM_001191221.2 | Atpase, class I, type 8B, member 2 |
| AVEN | XM_002700566.2 | Apoptosis, caspase activation inhibitor |
| AXDND1 | XM_002694161.1 | Axonemal dynein light chain domain containing 1 |
| B3GALT2 | NM_001076188.1 | UDP-Gal:betaglcnac beta 1,3-galactosyltransferase, polypeptide 2 |
| B3GAT2 | NM_001014392.1 | Beta-1,3-glucuronyltransferase 2 (glucuronosyltransferase 5) |
| B3GNT5 | NM_001076979.1 | UDP-glcnaac:betagal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 5 |
| B9D1 | NM_001110064.2 | B9 protein domain 1 |
| B9D2 | NM_001040593.1 | B9 protein domain 2 |
| BANF2 | NM_001040559.1 | Barrier to autointegration factor 2 |
| BASP1 | NM_174780.3 | Brain abundant, membrane attached signal protein 1 |
| BBS2 | NM_001038160.1 | Bardet-Biedl syndrome 2 |
| BBS5 | NM_001101132.1 | Bardet-Biedl syndrome 5 |
| BBS7 | NM_001191346.2 | Bardet-Biedl syndrome 7 |
| BCAM | NM_174741.2 | Basal cell adhesion molecule (Lutheran blood group) |
| BCAN | NM_173996.3 | Brevican |
| BCAS1 | NM_001077850.2 | Breast carcinoma amplified sequence 1 |
| BCAS4 | NM_001076474.1 | Breast carcinoma amplified sequence 4 |
| BCL2L14 | NM_001015544.1 | BCL2-like 14 (apoptosis facilitator) |
| BEX2 | NM_001077087.1 | Brain expressed X-linked 2 |
| BEX5 | NM_001075735.1 | Brain expressed, X-linked 5 |
| BIN1 | NM_001046541.1 | Bridging integrator 1 |
| BMPR1B | NM_001105328.1 | Bone morphogenetic protein receptor, type IB |
| BNC2 | XM_001789538.3 | Basonuclin 2 |
| BRAF | XM_864068.5 | V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 |

| | | |
|--------------|--------------------|---|
| BREH1 | NM_001012287.1 | Retinyl ester hydrolase type 1 |
| BSC12 | NM_001015589.1 | Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2 (seipin) |
| bta-mir-2464 | ENSBTAT00000062734 | Bta-mir-2464 |
| BTC | NM_173896.2 | Betacellulin |
| BTD | NM_001102206.1 | Biotinidase |
| C10H14orf135 | XM_003586585.1 | Chromosome 10 open reading frame, human c14orf135 |
| C10H14orf38 | NM_001038221.1 | Chromosome 10 open reading frame, human c14orf38 |
| C10H15orf23 | NM_001038055.1 | Chromosome 10 open reading frame, human c15orf23 |
| C10H15orf33 | XM_002690974.1 | Chromosome 10 open reading frame, human c15orf33 |
| C10H15orf48 | NM_001206976.1 | Chromosome 10 open reading frame, human c15orf48 |
| C11H2orf65 | XM_614936.4 | Chromosome 11 open reading frame, human c2orf65 |
| C11H2orf73 | NM_001101283.1 | Chromosome 11 open reading frame, human c2orf73 |
| C11H9orf167 | XM_870775.4 | Chromosome 11 open reading frame, human c9orf167 |
| C13H20orf108 | NM_001080278.1 | Chromosome 13 open reading frame, human c20orf108 |
| C13H20orf195 | NM_001079622.1 | Chromosome 13 open reading frame, human c20orf195 |
| C13H20orf96 | XM_002692430.1 | Chromosome 13 open reading frame, human c20orf96 |
| C15H11orf49 | NM_001038037.1 | Chromosome 15 open reading frame, human c11orf49 |
| C15H11orf70 | NM_001046598.1 | Chromosome 15 open reading frame, human c11orf70 |
| C15H11orf88 | NM_001077028.1 | Chromosome 15 open reading frame, human c11orf88 |
| C16H1orf53 | XM_001250233.4 | Uncharacterized LOC781739 |
| C16orf46 | ENSBTAT00000032575 | Chromosome 16 open reading frame 46 |
| C17H5orf52 | NM_001145133.1 | Chromosome 17 open reading frame, human c5orf52 |
| C19H17orf109 | NM_001163000.1 | Chromosome 19 open reading frame, human c17orf109 |
| C19H17orf28 | NM_001076924.1 | Chromosome 19 open reading frame, human c17orf28 |
| C19H17orf76 | XM_586543.4 | Chromosome 19 open reading frame, human c17orf76 |
| C1H21orf2 | NM_001075781.1 | Chromosome 1 open reading frame, human c21orf2 |
| C1H21orf63 | NM_001199027.1 | Chromosome 1 open reading frame, human c21orf63 |
| C1H3orf15 | XM_003581704.1 | Chromosome 1 open reading frame, human c3orf15 |
| C1H3orf52 | XM_865244.4 | Chromosome 1 open reading frame, human c3orf52 |
| C1orf233 | ENSBTAT00000065101 | Chromosome 1 open reading frame 233 |
| C21H14orf129 | NM_001078056.1 | Chromosome 21 open reading frame, human c14orf129 |
| C21H14orf132 | XM_870197.3 | Chromosome 21 open reading frame, human c14orf132 |
| C21H14orf142 | NM_001166559.1 | Chromosome 21 open reading frame, human c14orf142 |
| C21H15orf26 | NM_001075536.1 | Chromosome 21 open reading frame, human c15orf26 |
| C21H15orf39 | XM_002696677.2 | Chromosome 21 open reading frame, human c15orf39 |
| C22H3orf24 | NM_001077121.1 | Chromosome 22 open reading frame, human c3orf24 |
| C23H6orf141 | NM_001145653.1 | Chromosome 23 open reading frame, human c6orf141 |
| C25H16orf54 | NM_001105033.1 | Chromosome 25 open reading frame, human c16orf54 |
| C25H16orf89 | XM_002697889.2 | Chromosome 25 open reading frame, human c16orf89 |
| C26H10orf46 | XM_002698541.2 | Chromosome 26 open reading frame, human c10orf46 |
| C27H4orf47 | NM_001038136.1 | Chromosome 27 open reading frame, human c4orf47 |
| C27H8orf40 | NM_001098040.2 | Chromosome 27 open reading frame, human c8orf40 |
| C28H10orf107 | NM_001244348.1 | Chromosome 28 open reading frame, human c10orf107 |
| C28H10orf27 | NM_001038121.2 | Chromosome 28 open reading frame, human c10orf27 |
| C28H10orf99 | XM_002698933.1 | Chromosome 28 open reading frame, human c10orf99 |
| C29H11orf9 | XM_586725.6 | Chromosome 29 open reading frame, human c11orf9 |

| | | |
|------------|--------------------|--|
| C2CD4D | XM_001254822.2 | C2 calcium-dependent domain containing 4D |
| C2H1orf201 | NM_001102304.1 | Chromosome 2 open reading frame, human c1orf201 |
| C2H2orf77 | XM_002685306.1 | Chromosome 2 open reading frame, human c2orf77 |
| C3H1orf110 | NM_001076462.1 | Coiled-coil domain-containing protein c1orf110 homolog |
| C3H1orf111 | NM_001046460.1 | Chromosome 3 open reading frame, human c1orf111 |
| C3H1orf141 | NM_001077091.1 | Chromosome 3 open reading frame, human c1orf141 |
| C3H1orf168 | XM_002707810.2 | Chromosome 3 open reading frame, human c1orf168 |
| C3H1orf88 | XM_002686144.1 | Chromosome 3 open reading frame, human c1orf88 |
| C3orf49 | ENSBTAT00000053491 | Uncharacterized protein |
| C4BPA | NM_174252.2 | Complement component 4 binding protein, alpha |
| C5H12orf63 | XM_002687523.2 | Chromosome 5 open reading frame, human c12orf63 |
| C6 | NM_001045979.1 | Complement component 6 |
| C6H4orf19 | NM_001104973.1 | Chromosome 6 open reading frame, human c4orf19 |
| C6H4orf37 | XM_002688130.1 | Chromosome 6 open reading frame, human c4orf37 |
| C6orf183 | ENSBTAT00000064270 | Chromosome 6 open reading frame 183 |
| C7H19orf57 | XM_866273.4 | Chromosome 7 open reading frame, human c19orf57 |
| C7H19orf70 | XM_613885.4 | Chromosome 7 open reading frame, human c19orf70 |
| C7H19orf71 | ENSBTAT00000019944 | Uncharacterized protein c19orf71 homolog |
| C7H5orf63 | XM_002688977.1 | Chromosome 7 open reading frame, human c5orf63 |
| C9H6orf118 | NM_001046213.1 | Chromosome 9 open reading frame, human c6orf118 |
| C9H6orf225 | NM_001195067.1 | Chromosome 9 open reading frame, human c6orf225 |
| C9H6orf72 | NM_001038509.1 | Chromosome 9 open reading frame, human c6orf72 |
| CA2 | NM_178572.2 | Carbonic anhydrase II |
| CA8 | NM_001083690.1 | Carbonic anhydrase VIII |
| CA9 | XM_002689698.1 | Carbonic anhydrase IX |
| CABYR | NM_001038067.1 | Calcium binding tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated |
| CACNA2D4 | XM_002707821.1 | Calcium channel, voltage-dependent, alpha 2/delta subunit 4 |
| CACNB2 | NM_175789.2 | Calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit |
| CACNB3 | NM_174509.3 | Calcium channel, voltage-dependent, beta 3 subunit |
| CACNG4 | XM_871022.5 | Calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 4 |
| CADPS | NM_001076020.1 | Ca ⁺⁺⁺ -dependent secretion activator |
| CADPS2 | NM_001102055.1 | Ca ⁺⁺⁺ -dependent secretion activator 2 |
| CAGE1 | XM_606238.5 | Cancer antigen 1 |
| CALM1 | NM_001242572.1 | Calmodulin 1 (phosphorylase kinase, delta) |
| CALML4 | NM_001034671.1 | Calmodulin-like 4 |
| CALML6 | XM_003583246.1 | Calmodulin-like 6 |
| CAMK1D | XM_605252.4 | Calcium/calmodulin-dependent protein kinase ID |
| CAMK2N2 | NM_001114514.1 | Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II inhibitor 2 |
| CAMKK1 | NM_001192251.1 | Calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 1, alpha |
| CAPN14 | NM_001192425.1 | Calpain 14 |
| CAPS2 | XM_003582174.1 | Calcyphosine 2 |
| CARNS1 | ENSBTAT00000023529 | Carnosine synthase 1 |
| CASC1 | NM_001046282.1 | Cancer susceptibility candidate 1 |
| CBLC | NM_001101248.1 | Cas-Br-M (murine) ecotropic retroviral transforming sequence c |
| CBLN4 | NM_001081537.1 | Cerebellin 4 precursor |
| CC2D2A | XM_595408.5 | Coiled-coil and C2 domain containing 2A |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| CCBE1 | XM_614377.5 | Collagen and calcium binding EGF domains 1 |
| CCDC103 | XM_002696045.1 | Coiled-coil domain containing 103 |
| CCDC104 | NM_001034453.1 | Coiled-coil domain containing 104 |
| CCDC108 | ENSBTAT00000013615 | Coiled-coil domain containing 108 |
| CCDC14 | NM_001105469.1 | Coiled-coil domain containing 14 |
| CCDC146 | NM_001205487.1 | Coiled-coil domain containing 146 |
| CCDC147 | XM_617064.6 | Coiled-coil domain containing 147 |
| CCDC148 | XM_865557.4 | Coiled-coil domain containing 148 |
| CCDC150 | XM_002685477.1 | Coiled-coil domain containing 150 |
| CCDC158 | XM_002688358.1 | Coiled-coil domain containing 158 |
| CCDC162P | XR_084196.2 | Coiled-coil domain containing 162, pseudogene |
| CCDC30 | XM_002704019.2 | Coiled-coil domain containing 30 |
| CCDC39 | NM_001206056.1 | Coiled-coil domain containing 39 |
| CCDC40 | XM_608246.5 | Coiled-coil domain containing 40 |
| CCDC41 | NM_001206525.1 | Coiled-coil domain containing 41 |
| CCDC46 | XM_003584749.1 | Coiled-coil domain containing 46-like |
| CCDC50 | NM_001038147.1 | Coiled-coil domain containing 50 |
| CCDC57 | XM_002696133.2 | Coiled-coil domain containing 57 |
| CCDC67 | NM_001206892.1 | Coiled-coil domain containing 67 |
| CCDC69 | NM_001206624.1 | Coiled-coil domain containing 69 |
| CCDC73 | NM_001192547.1 | Coiled-coil domain containing 73 |
| CCDC88C | NM_001102017.1 | Coiled-coil domain containing 88C |
| CCDC91 | NM_001193032.1 | Coiled-coil domain containing 91 |
| CCDC96 | NM_001103314.1 | Coiled-coil domain containing 96 |
| CCL26 | NM_001205635.1 | Chemokine (C-C motif) ligand 26 |
| CCNA1 | XM_600212.5 | Cyclin A1 |
| CCND2 | NM_001076372.1 | Cyclin D2 |
| CCNO | XM_003585112.1 | Cyclin O |
| CD177 | NM_001099155.1 | CD177 molecule |
| CD247 | NM_174012.2 | CD247 molecule |
| CD46 | NM_001242564.1 | CD46 molecule, complement regulatory protein |
| CD55 | NM_001030303.1 | CD55 molecule, decay accelerating factor for complement (Cromer) |
| CDC14A | XM_003585862.1 | CDC14 cell division cycle 14 homolog A (S. Cerevisiae) |
| CDC14B | NM_001193238.1 | CDC14 cell division cycle 14 homolog B (S. Cerevisiae) |
| CDC25A | NM_001101100.1 | Cell division cycle 25 homolog A (S. Pombe) |
| CDC25C | NM_001097996.1 | Cell division cycle 25 homolog C (S. Pombe) |
| CDC42BPA | NM_001192937.1 | CDC42 binding protein kinase alpha (DMPK-like) |
| CDH24 | XM_002700557.2 | Cadherin 24, type 2 |
| CDH26 | XM_869285.3 | Cadherin 26 |
| CDHR4 | NM_001191232.1 | Cadherin-related family member 4 |
| CDK18 | NM_001083473.1 | Cyclin-dependent kinase 18 |
| CDK5RAP2 | NM_001192169.1 | CDK5 regulatory subunit associated protein 2 |
| CDKN1A | NM_001098958.1 | Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1) |
| CDKN2C | NM_001101054.1 | Cyclin-dependent kinase inhibitor 2C (p18, inhibits CDK4) |
| CEBPE | NM_001192808.1 | CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), epsilon |
| CELA1 | NM_174048.1 | Chymotrypsin-like elastase family, member 1 |

| | | |
|---------|--------------------|---|
| CELA2A | NM_174714.2 | Chymotrypsin-like elastase family, member 2A |
| CELF5 | XM_610805.5 | CUGBP, Elav-like family member 5 |
| CELF6 | NM_001205644.1 | CUGBP, Elav-like family member 6 |
| CENPT | NM_001101969.1 | Centromere protein T |
| CEP104 | XM_001252419.3 | Centrosomal protein 104kda |
| CEP290 | NM_174722.2 | Centrosomal protein 290kda |
| CEP350 | XM_002694164.2 | Centrosomal protein 350kda |
| CEP72 | XM_002696469.1 | Centrosomal protein 72kda |
| CEP89 | XM_003583398.1 | Centrosomal protein 89kda |
| CEPT1 | NM_001193130.1 | Choline/ethanolamine phosphotransferase 1 |
| CERKL | XM_002685268.1 | Ceramide kinase-like |
| CES1 | NM_001046018.1 | Carboxylesterase 1 (monocyte/macrophage serine esterase 1) |
| CGN | NM_001192786.1 | Cingulin |
| CHADL | ENSBTAT00000055322 | Chondroadherin-like |
| CHCHD6 | NM_001076402.1 | Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 6 |
| CHDH | NM_001205564.1 | Choline dehydrogenase |
| CHI3L2 | XM_003585850.1 | Chitinase-3-like protein 2-like |
| CHIA | NM_174699.2 | Chitinase, acidic |
| CHMP4C | NM_001045976.1 | Charged multivesicular body protein 4C |
| CHN2 | NM_001045963.1 | Chimerin (chimaerin) 2 |
| CHST4 | NM_001076145.1 | Carbohydrate (N-acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 4 |
| CHST8 | NM_001145992.1 | Carbohydrate (N-acetylgalactosamine 4-O) sulfotransferase 8 |
| CIDEB | NM_001034567.1 | Cell death-inducing DFFA-like effector b |
| CIST1 | NM_001075271.1 | Intestine-specific transcript 1 protein |
| CITED1 | NM_174518.1 | Cbp/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich carboxy- |
| CKM | NM_174773.3 | Creatine kinase, muscle |
| CKMT1B | NM_174275.2 | Creatine kinase, mitochondrial 1B |
| CLDN11 | NM_001035055.1 | Claudin 11 |
| CLDN3 | NM_205801.2 | Claudin 3 |
| CLDN9 | XM_002697935.1 | Claudin 9 |
| CLGN | NM_001034205.1 | Calmegin |
| CLIC1 | NM_001015608.1 | Chloride intracellular channel 1 |
| CLINT1 | NM_001105417.1 | Clathrin interactor 1 |
| CLMN | XM_002696763.1 | Calmin (calponin-like, transmembrane) |
| CLU | NM_173902.2 | Clusterin |
| CNR1 | NM_001242341.1 | Cannabinoid receptor 1 (brain) |
| CNTD2 | XR_083919.1 | G2/mitotic-specific cyclin-B2-like |
| COLEC11 | NM_001076303.1 | Collectin sub-family member 11 |
| COMMD9 | NM_001038520.1 | COMM domain containing 9 |
| CPEB3 | NM_001193228.1 | Cytoplasmic polyadenylation element binding protein 3 |
| CPNE5 | NM_001205639.1 | Copine V |
| CPNE7 | XM_002694766.2 | Copine VII |
| CRB1 | NM_001192482.1 | Crumbs homolog 1 (Drosophila) |
| CREB3L4 | XM_002685996.1 | Camp responsive element binding protein 3-like 4 |
| CRTAC1 | NM_001191289.2 | Cartilage acidic protein 1 |
| CRYBB1 | NM_174526.2 | Crystallin, beta B1 |

| | | |
|-----------|--------------------|---|
| CSN1S1 | NM_181029.2 | Casein alpha s1 |
| CSPP1 | NM_001193015.2 | Centrosome and spindle pole associated protein 1 |
| CSRP1 | NM_001083771.1 | Cysteine and glycine-rich protein 1 |
| CTAGE5 | NM_001075599.1 | CTAGE family, member 5 |
| CTNNA2 | XM_010810060.1 | Catenin (cadherin-associated protein), alpha 2 |
| CTNND2 | XM_002696428.2 | Catenin (cadherin-associated protein), delta 2 (neural plakophilin-1) |
| CTPS | NM_001077858.1 | CTP synthase |
| CTSC | NM_001033617.1 | Cathepsin C |
| CTSL1 | NM_001083686.1 | Cathepsin L1 |
| CTXN1 | NM_001105494.1 | Cortexin 1 |
| CUEDC2 | NM_001075737.1 | CUE domain containing 2 |
| CX3CL1 | XM_595523.5 | Chemokine (C-X3-C motif) ligand 1 |
| CXHXorf22 | XM_002700184.1 | Chromosome X open reading frame, human cxorf22 |
| CXHXorf58 | NM_001102023.1 | Chromosome X open reading frame, human cxorf58 |
| CYB561D2 | NM_001014937.2 | Cytochrome b-561 domain containing 2 |
| CYB5D1 | NM_001192138.1 | Cytochrome b5 domain containing 1 |
| CYP2S1 | NM_001100366.1 | Cytochrome P450, family 2, subfamily S, polypeptide 1 |
| CYP3A4 | NM_001099367.1 | Cytochrome P450, subfamily IIIA, polypeptide 4 |
| CYP3A5 | NM_174531.2 | Cytochrome P450, subfamily IIIA (niphedipine oxidase), polypeptide 5 |
| CYP4A11 | NM_001077908.1 | Cytochrome P450, family 4, subfamily A, polypeptide 11 |
| DAB1 | XM_003582007.1 | Disabled homolog 1 (Drosophila) |
| DAPK2 | XM_010809297.1 | Death-associated protein kinase 2 |
| DBNDD2 | NM_001130748.1 | Dysbindin (dystrobrevin binding protein 1) domain containing 2 |
| DCAF15 | NM_001034685.1 | DDB1 and CUL4 associated factor 15 |
| DCDC1 | NM_001076434.1 | Doublecortin domain containing 1 |
| DCHS2 | ENSBTAT00000017605 | Dachsous cadherin-related 2 |
| DCLK3 | XM_003583775.1 | Serine/threonine-protein kinase DCLK3-like |
| DCXR | NM_001075891.1 | Dicarbonyl/L-xylulose reductase |
| DDN | NM_001102301.1 | Dendrin |
| DDO | NM_173908.2 | D-aspartate oxidase |
| DDX25 | NM_001038517.1 | DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 25 |
| DEDD2 | NM_001076017.1 | Death effector domain containing 2 |
| DEFB | NM_001078133.1 | Defensin, beta |
| DHCR7 | NM_001014927.1 | 7-dehydrocholesterol reductase |
| DHRS7 | NM_001046162.1 | Dehydrogenase/reductase (SDR family) member 7 |
| DHRSX | XM_591168.5 | Dehydrogenase/reductase (SDR family) X-linked |
| DHX32 | NM_001101144.1 | DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 32 |
| DIDO1 | XM_003582945.1 | Death inducer-obliterator 1 |
| DIXDC1 | XM_002693011.2 | DIX domain containing 1 |
| DLG2 | XM_003584226.1 | Discs, large homolog 2 (Drosophila) |
| DLX4 | NM_001098041.1 | Distal-less homeobox 4 |
| DMGDH | NM_001205545.1 | Dimethylglycine dehydrogenase |
| DMRT1 | NM_001078060.1 | Doublesex and mab-3 related transcription factor 1 |
| DMXL1 | XM_002688999.2 | Dmx-like 1 |
| DMXL2 | XM_002690967.2 | Dmx-like 2 |
| DNAJB1 | NM_001033763.1 | Dnaj (Hsp40) homolog, subfamily B, member 1 |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| DNAJB2 | NM_001034592.1 | Dnaj (Hsp40) homolog, subfamily B, member 2 |
| DNAJC10 | NM_001099121.1 | Dnaj (Hsp40) homolog, subfamily C, member 10 |
| DNAJC12 | NM_174096.2 | Dnaj (Hsp40) homolog, subfamily C, member 12 |
| DNAL4 | NM_001080918.1 | Dynein, axonemal, light chain 4 |
| DNM3 | NM_001243284.1 | Dynamamin 3 |
| DOC2G | NM_001076499.1 | Double C2, gamma |
| DPY19L2 | NM_001206782.1 | Dpy-19-like 2 (C. Elegans) |
| DSC2 | NM_001166526.1 | Desmocollin 2 |
| DSC3 | NM_001178103.1 | Desmocollin 3 |
| DSG2 | NM_001192172.2 | Desmoglein 2 |
| DTNB | NM_001192800.1 | Dystrobrevin, beta |
| DTX3 | NM_001105393.1 | Deltex homolog 3 (Drosophila) |
| DYNC2H1 | XM_010812295.1 | Dynein, cytoplasmic 2, heavy chain 1 |
| DYNC2LI1 | NM_001038051.1 | Dynein, cytoplasmic 2, light intermediate chain 1 |
| DYRK3 | NM_001100298.1 | Dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 3 |
| DYX1C1 | NM_001206188.1 | Dyslexia susceptibility 1 candidate 1 |
| EAF2 | NM_001046507.1 | ELL associated factor 2 |
| EBPL | NM_001205739.1 | Emopamil binding protein-like |
| ECHDC2 | NM_001038536.1 | Enoyl coa hydratase domain containing 2 |
| EEF2K | NM_001192542.1 | Eukaryotic elongation factor-2 kinase |
| EFCAB11 | XM_869611.4 | EF-hand calcium binding domain 11 |
| EFCAB2 | NM_001101247.1 | EF-hand calcium binding domain 2 |
| EGFL6 | XM_002707423.1 | EGF-like-domain, multiple 6 |
| EGLN3 | NM_001101164.1 | Egl nine homolog 3 (C. Elegans) |
| EIF4E3 | NM_001102306.1 | Eukaryotic translation initiation factor 4E family member 3 |
| ELL3 | NM_001046126.1 | Elongation factor RNA polymerase II-like 3 |
| ELMO3 | NM_001102091.1 | Engulfment and cell motility 3 |
| ELMOD1 | NM_001078108.1 | ELMO/CED-12 domain containing 1 |
| EMC9 | XM_002690497.1 | ER membrane protein complex subunit 9 |
| EML3 | NM_001101846.1 | Echinoderm microtubule associated protein like 3 |
| ENDOD1 | NM_001102519.1 | Endonuclease domain containing 1 |
| ENTPD3 | NM_001017935.1 | Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 3 |
| EPB41L3 | NM_001206169.1 | Erythrocyte membrane protein band 4.1-like 3 |
| EPB41L4A | ENSBTAT00000019627 | Erythrocyte membrane protein band 4.1 like 4A |
| EPCAM | NM_001035290.1 | Epithelial cell adhesion molecule |
| EPHB6 | ENSBTAT00000033428 | Ephrin type-B receptor 6 precursor |
| EPHX1 | NM_001034629.1 | Epoxide hydrolase 1, microsomal (xenobiotic) |
| EPHX2 | NM_001075534.1 | Epoxide hydrolase 2, cytoplasmic |
| EPN3 | NM_001046434.1 | Epsin 3 |
| ERAP1 | NM_001102003.1 | Endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 |
| ERBB4 | XM_003581865.1 | V-erb-a erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 4 (avian) |
| ERGIC1 | NM_001076417.1 | Endoplasmic reticulum-golgi intermediate compartment (ERGIC) 1 |
| ESD | NM_001076065.1 | Esterase D |
| ESM1 | NM_001098101.1 | Endothelial cell-specific molecule 1 |
| ESRP1 | NM_001193002.1 | Epithelial splicing regulatory protein 1 |
| ESRP2 | NM_001205685.1 | Epithelial splicing regulatory protein 2 |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| ESRRB | XM_003586599.1 | Estrogen-related receptor beta |
| ETNK2 | XM_612564.5 | Ethanolamine kinase 2 |
| EXPI | NM_001205278.1 | Extracellular proteinase inhibitor |
| EXTL3 | NM_001082473.1 | Exostoses (multiple)-like 3 |
| EYA1 | XM_003586894.1 | Eyes absent homolog 1 (Drosophila) |
| EZR | NM_174217.2 | Ezrin |
| FAAH | NM_001099102.1 | Fatty acid amide hydrolase |
| FAH | NM_001098912.1 | Fumarylacetoacetate hydrolase (fumarylacetoacetase) |
| FAM102B | XM_592474.5 | Family with sequence similarity 102, member B |
| FAM103A1 | NM_001034757.1 | Family with sequence similarity 103, member A1 |
| FAM110B | NM_001077018.1 | Family with sequence similarity 110, member B |
| FAM118A | NM_001038035.2 | Family with sequence similarity 118, member A |
| FAM132A | XM_002694132.1 | Family with sequence similarity 132, member A |
| FAM132B | ENSBTAT00000042641 | Family with sequence similarity 132, member B |
| FAM160A1 | XM_607376.6 | Family with sequence similarity 160, member A1 |
| FAM164C | XM_611651.2 | Family with sequence similarity 164, member C |
| FAM181A | XM_002696759.1 | Family with sequence similarity 181, member A |
| FAM184A | XM_614661.5 | Family with sequence similarity 184, member A |
| FAM186B | XM_002687302.2 | Family with sequence similarity 186, member B |
| FAM216A | NM_001035480.1 | Chromosome 17 open reading frame, human c12orf24 |
| FAM26F | NM_001206235.1 | Family with sequence similarity 26, member F |
| FAM3D | XM_865037.3 | Family with sequence similarity 3, member D |
| FAM46A | XM_592539.6 | Family with sequence similarity 46, member A |
| FAM47E | XM_585328.4 | Family with sequence similarity 47, member E |
| FAM60A | NM_001076116.1 | Family with sequence similarity 60, member A |
| FAM81A | XM_002690852.1 | Family with sequence similarity 81, member A |
| FAM82A1 | NM_001040508.1 | Family with sequence similarity 82, member A1 |
| FAM83H | XM_002692552.2 | Family with sequence similarity 83, member H |
| FAM84A | NM_001034659.1 | Family with sequence similarity 84, member A |
| FBP1 | NM_001034447.1 | Fructose-1,6-bisphosphatase 1 |
| FBP2 | NM_001046164.1 | Fructose-1,6-bisphosphatase 2 |
| FBRSL1 | XM_003583300.1 | Fibrosin-1-like protein-like |
| FBXL13 | XM_005205376.2 | F-box and leucine-rich repeat protein 13 |
| FBXL22 | NM_001046156.1 | F-box and leucine-rich repeat protein 22 |
| FBXO36 | NM_001082617.1 | F-box protein 36 |
| FBXO42 | NM_001046287.1 | F-box protein 42 |
| FBXW10 | XM_001789314.3 | F-box and WD repeat domain containing 10 |
| FCAMR | ENSBTAT00000026382 | Fc receptor, iga, igm, high affinity |
| FCGR2 | NM_174539.2 | Fc fragment of igg, low affinity iib, receptor (CD32) |
| FCGRT | NM_176657.1 | Fc fragment of igg, receptor, transporter, alpha |
| FGFR2 | NM_001205310.1 | Fibroblast growth factor receptor 2 |
| FGFR4 | NM_001192584.1 | Fibroblast growth factor receptor 4 |
| FIGF | NM_001101043.1 | C-fos induced growth factor (vascular endothelial growth factor D) |
| FJX1 | XM_003584883.1 | Four jointed box 1 (Drosophila) |
| FKBP5 | NM_001192862.1 | FK506 binding protein 5 |
| FLNC | NM_001206990.1 | Filamin C, gamma |

| | | |
|---------|--------------------|--|
| FLRT3 | NM_001192674.1 | Fibronectin leucine rich transmembrane protein 3 |
| FMN1 | XM_001253931.4 | Formin 1 |
| FMO2 | NM_001163274.1 | Flavin containing monooxygenase 2 (non-functional) |
| FMO3 | NM_174057.2 | Flavin containing monooxygenase 3 |
| FOXP4 | NM_001205524.1 | Forkhead box P4 |
| FRK | XM_586141.5 | Fyn-related kinase |
| FUT5 | NM_176851.1 | Fucosyltransferase 5 (alpha (1,3) fucosyltransferase) |
| FXYD3 | NM_001079646.1 | FXYD domain containing ion transport regulator 3 |
| FYB | NM_001105414.1 | FYN binding protein |
| FZD8 | XM_869051.5 | Frizzled family receptor 8 |
| G6PD | NM_001244135.1 | Glucose-6-phosphate dehydrogenase |
| GABRA5 | NM_001075844.1 | Gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, alpha 5 |
| GALNT3 | NM_001192858.1 | UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetyltransferase 3 (alpha 3) |
| GALNT4 | NM_001103321.1 | UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetyltransferase 4 (alpha 4) |
| GALNT5 | NM_001143859.1 | UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetyltransferase 5 (alpha 5) |
| GALNT7 | XM_602855.3 | UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetyltransferase 7 (alpha 7) |
| GAS8 | NM_001097569.1 | Growth arrest-specific 8 |
| GATA6 | XM_002697727.1 | GATA binding protein 6 |
| GCAT | NM_001075134.1 | Glycine C-acetyltransferase |
| GCHFR | NM_001114526.1 | GTP cyclohydrolase I feedback regulator |
| GFPT1 | NM_001109961.1 | Glutamine--fructose-6-phosphate transaminase 1 |
| GFRA3 | NM_001083747.1 | GNDF family receptor alpha 3 |
| GGT6 | NM_001105434.1 | Gamma-glutamyltransferase 6 |
| GHRL | NM_174067.2 | Ghrelin/obestatin prepropeptide |
| GJB1 | ENSBTAT00000027331 | Gap junction protein, beta 1, 32kda |
| GJB7 | XM_003586474.1 | Gap junction protein, beta 7, 25kda |
| GLB1 | NM_001035043.1 | Galactosidase, beta 1 |
| GLCE | NM_174070.2 | Glucuronic acid epimerase |
| GLRA3 | XM_002689452.1 | Glycine receptor, alpha 3 |
| GNA14 | NM_174323.2 | Guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha 14 |
| GNG13 | NM_001206332.1 | Guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 13 |
| GNG2 | NM_174072.3 | Guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 2 |
| GNPTAB | NM_001192228.1 | N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase, alpha and beta subunits |
| GOLPH3L | NM_001099052.1 | Golgi phosphoprotein 3-like |
| GPAA1 | NM_001024529.1 | Glycosylphosphatidylinositol anchor attachment protein 1 homolog |
| GPD1 | NM_001035354.1 | Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 (soluble) |
| GPR110 | NM_001192327.1 | G protein-coupled receptor 110 |
| GPR144 | XM_002700871.1 | G protein-coupled receptor 144 |
| GPR171 | NM_001077002.1 | G protein-coupled receptor 171 |
| GPR19 | NM_001101214.1 | G protein-coupled receptor 19 |
| GPR56 | ENSBTAT00000066025 | G protein-coupled receptor 56 |
| GPR98 | XM_617188.6 | G protein-coupled receptor 98 |
| GPRIN3 | XM_002688165.2 | GPRIN family member 3 |
| GPT | NM_001083740.1 | Glutamic-pyruvate transaminase (alanine aminotransferase) |
| GPX2 | NM_001163139.1 | Glutathione peroxidase 2 (gastrointestinal) |
| GRAMD1A | XM_002701855.2 | GRAM domain containing 1A |

| | | |
|----------|--------------------|---|
| GRIA1 | XM_002704887.2 | Glutamate receptor, ionotropic, AMPA 1 |
| GRID1 | XM_003584210.1 | Glutamate receptor, ionotropic, delta 1 |
| GRIN2B | NM_001192921.1 | Glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2B |
| GRIP1 | ENSBTAT00000063440 | Glutamate receptor interacting protein 1 |
| GRM3 | NM_001098123.1 | Glutamate receptor, metabotropic 3 |
| GSDMB | NM_001244217.1 | Gasdermin B |
| GSDMC | NM_001046004.1 | Gasdermin C |
| GSTA2 | NM_177515.2 | Glutathione S-transferase alpha 2 |
| GSTA3 | NM_001078149.1 | Glutathione S-transferase alpha 3 |
| GSTA5 | NM_001099016.1 | Glutathione S-transferase alpha 5 |
| GSTO1 | XM_003587877.1 | Glutathione S-transferase omega 1 |
| GUCY1A2 | NM_001191341.1 | Guanylate cyclase 1, soluble, alpha 2 |
| GULO | NM_001034043.1 | L-gulono-gamma-lactone oxidase |
| H2AFY2 | NM_001076086.1 | H2A histone family, member Y2 |
| HAPLN2 | NM_001075684.1 | Hyaluronan and proteoglycan link protein 2 |
| HBA1 | XM_001788676.3 | Hemoglobin, alpha 1 |
| HCAR3 | XM_002701703.1 | Hydroxycarboxylic acid receptor 3 |
| HDAC10 | NM_001075460.1 | Histone deacetylase 10 |
| HEPACAM | NM_001031759.2 | Hepatic and glial cell adhesion molecule |
| HEPACAM2 | NM_001101974.1 | HEPACAM family member 2 |
| HERC6 | NM_001192644.1 | Hect domain and RLD 6 |
| HESX1 | NM_001191140.1 | HESX homeobox 1 |
| HGSNAT | XM_002698729.1 | Heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase |
| HHATL | ENSBTAT00000047533 | Hedgehog acyltransferase-like |
| HIF1A | NM_174339.3 | Hypoxia inducible factor 1, alpha subunit (basic helix-loop-helix |
| HM13 | NM_001046124.2 | Histocompatibility (minor) 13 |
| HOGA1 | NM_001075237.1 | 4-hydroxy-2-oxoglutarate aldolase 1 |
| HOMER2 | NM_001075467.1 | Homer homolog 2 (Drosophila) |
| HOOK1 | NM_001206870.1 | Hook homolog 1 (Drosophila) |
| HOXB2 | NM_001191335.1 | Homeobox B2 |
| HOXC5 | NM_001191351.1 | Homeobox C5 |
| HPCA | NM_001025328.2 | Hippocalcin |
| HPSE | NM_174082.2 | Heparanase |
| HRASLS | NM_001076225.2 | HRAS-like suppressor |
| HS3ST1 | ENSBTAT00000009799 | Heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 1 |
| HS3ST5 | NM_001076215.1 | Heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5 |
| HS6ST2 | NM_001206635.1 | Heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 2 |
| HSD11B1L | NM_206969.1 | Hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 1-like |
| HSP90AA1 | NM_001012670.2 | Heat shock protein 90kda alpha (cytosolic), class A member 1 |
| HSPA1A | NM_203322.2 | Heat shock 70kda protein 1A |
| HSPA4L | XM_002707745.2 | Heat shock 70kda protein 4-like |
| HSPA6 | XM_589747.3 | Heat shock 70kda protein 6 (HSP70B') |
| HSPH1 | NM_001075302.1 | Heat shock 105kda/110kda protein 1 |
| HUS1 | NM_001079592.1 | HUS1 checkpoint homolog (S. Pombe) |
| ICAM5 | NM_001113762.1 | Intercellular adhesion molecule 5, telencephalin |
| IDNK | XM_003585184.1 | Idnk, gluconokinase homolog (E. Coli) |

| | | |
|-----------|--------------------|---|
| IDS | NM_001192851.1 | Iduronate 2-sulfatase |
| IFFO2 | XM_001255600.2 | Intermediate filament family orphan 2 |
| IFI30 | NM_001101251.1 | Interferon, gamma-inducible protein 30 |
| IFI44L | XM_001789353.3 | Interferon-induced protein 44-like |
| IFLTD1 | XM_002687733.2 | Intermediate filament tail domain containing 1 |
| IFT122 | NM_001206592.1 | Intraflagellar transport 122 homolog (Chlamydomonas) |
| IFT27 | ENSBTAT00000008157 | Intraflagellar transport 27 |
| IFT43 | NM_001040521.1 | Intraflagellar transport 43 homolog (Chlamydomonas) |
| IFT52 | NM_001038101.1 | Intraflagellar transport 52 homolog (Chlamydomonas) |
| IFT74 | NM_001205775.1 | Intraflagellar transport 74 homolog (Chlamydomonas) |
| IFT80 | NM_001098959.1 | Intraflagellar transport 80 homolog (Chlamydomonas) |
| IFT81 | NM_001081525.1 | Intraflagellar transport 81 homolog (Chlamydomonas) |
| IGFBP5 | NM_001105327.1 | Insulin-like growth factor binding protein 5 |
| IGSF5 | NM_001206780.1 | Immunoglobulin superfamily, member 5 |
| IKBKE | NM_001046345.1 | Inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase |
| IL17B | NM_001192045.1 | Interleukin 17B |
| IL1R1 | NM_001206735.1 | Interleukin 1 receptor, type I |
| IL9R | ENSBTAT00000009944 | Interleukin 9 receptor |
| INSL5 | NM_001206131.1 | Insulin-like 5 |
| INTS3 | NM_001193087.1 | Integrator complex subunit 3 |
| IQCH | XM_003582656.1 | IQ motif containing H |
| IQCK | NM_001192088.1 | IQ motif containing K |
| IRF2BPL | XM_002691124.1 | Interferon regulatory factor 2 binding protein-like |
| ITGA7 | NM_001191305.1 | Integrin, alpha 7 |
| ITM2B | NM_001035093.1 | Integral membrane protein 2B |
| ITPKA | NM_001083519.1 | Inositol-trisphosphate 3-kinase A |
| ITPRIPL2 | XM_002698040.1 | Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor interacting protein-like 2 |
| JAM2 | NM_001083736.1 | Junctional adhesion molecule 2 |
| KAZALD1 | XM_869707.3 | Kazal-type serine peptidase inhibitor domain 1 |
| KBTBD10 | NM_001083377.1 | Kelch repeat and BTB (POZ) domain containing 10 |
| KBTBD5 | NM_001015598.1 | Kelch repeat and BTB (POZ) domain containing 5 |
| KBTBD6 | ENSBTAT00000011412 | Kelch repeat and BTB domain-containing protein 6 |
| KCNA5 | NM_001015552.1 | Potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, |
| KCNE3 | XM_606161.1 | Potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 3 |
| KCNH2 | NM_001099101.1 | Potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), |
| KCNK1 | NM_001075207.1 | Potassium channel, subfamily K, member 1 |
| KCNMB2 | NM_001080300.1 | Potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily |
| KCNN3 | XM_003585828.1 | Potassium intermediate/small conductance calcium-activated |
| KCNQ4 | XM_002686538.2 | Potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 4 |
| KCNRG | NM_205808.1 | Potassium channel regulator |
| KCTD7 | NM_001102545.1 | Potassium channel tetramerisation domain containing 7 |
| KIAA0195 | XM_002696179.2 | KIAA0195 ortholog |
| KIAA0319 | XM_003587725.1 | KIAA0319 ortholog |
| KIAA0319L | XM_002686480.1 | KIAA0319-like ortholog |
| KIAA0564 | XM_602479.6 | KIAA0564 ortholog |
| KIAA1257 | XM_002707781.2 | KIAA1257 ortholog |

| | | |
|--------------|--------------------|--|
| KIAA1370 | XM_601152.4 | KIAA1370 ortholog |
| KIAA1377 | ENSBTAT00000026683 | Uncharacterized protein |
| KIAA1383 | NM_001098148.1 | KIAA1383 ortholog |
| KIAA1407 | XM_002684755.1 | KIAA1407 ortholog |
| KIAA1456 | NM_001076832.1 | Putative methyltransferase KIAA1456 homolog |
| KIAA1462 | NM_001082474.1 | KIAA1462 ortholog |
| KIAA1751 | XM_001788491.3 | KIAA1751 ortholog |
| KIF12 | XM_003586439.1 | Kinesin family member 12 |
| KIF13A | XM_002697576.2 | Kinesin family member 13A |
| KIF17 | NM_001105212.1 | Kinesin family member 17 |
| KIF19 | XM_003583654.1 | Kinesin family member 19 |
| KIF23 | NM_001098038.1 | Kinesin family member 23 |
| KIF27 | NM_001206123.1 | Kinesin family member 27 |
| KLF13 | NM_001083533.1 | Kruppel-like factor 13 |
| KLHDC7A | XM_608636.3 | Kelch domain containing 7A |
| KLHL33 | NM_001166652.1 | Kelch-like 33 (Drosophila) |
| KREMEN1 | XM_602679.6 | Kringle containing transmembrane protein 1 |
| KRT15 | NM_001130747.1 | Keratin 15 |
| KRT17 | NM_001105322.1 | Keratin 17 |
| KRT19 | NM_001015600.3 | Keratin 19 |
| KRT7 | NM_001046411.1 | Keratin 7 |
| KRT76 | XM_003584897.1 | Keratin 76 |
| KSR1 | XM_001788749.2 | Kinase suppressor of ras 1 |
| LAMA1 | XM_002697797.1 | Laminin, alpha 1 |
| LAMA3 | XM_001787272.1 | Laminin, alpha 3 |
| LCAT | NM_001046069.1 | Lecithin-cholesterol acyltransferase |
| LCORL | NM_001192357.1 | Ligand dependent nuclear receptor corepressor-like |
| LDLRAD3 | NM_001192619.1 | Low density lipoprotein receptor class A domain containing 3 |
| LEKR1 | XM_001253692.4 | Leucine, glutamate and lysine rich 1 |
| LENEP | ENSBTAT00000064328 | Lens epithelial protein |
| LGR5 | NM_001192520.1 | Leucine-rich repeat containing G protein-coupled receptor 5 |
| LHB | NM_173930.1 | Luteinizing hormone beta polypeptide |
| LIMCH1 | NM_001191521.1 | LIM and calponin homology domains 1 |
| LINGO1 | XM_002696672.2 | Leucine rich repeat and Ig domain containing 1 |
| LMAN1L | XM_002696679.2 | Lectin, mannose-binding, 1 like |
| LMO1 | NM_001075895.1 | LIM domain only 1 (rhombotin 1) |
| LNP1 | NM_001205535.1 | Leukemia NUP98 fusion partner 1 |
| LNX1 | NM_001076234.2 | Ligand of numb-protein X 1 |
| LOC100125925 | NM_001105495.1 | UPF0638 protein B |
| LOC100137759 | XM_003588069.1 | N-acetyl-beta-glucosaminyl-glycoprotein 4-beta-N- |
| LOC100137867 | XM_002687968.2 | Uncharacterized LOC100137867 |
| LOC100138149 | XM_001788182.1 | Uncharacterized LOC100138149 |
| LOC100138302 | NR_045130.1 | Magnesium transporter 1-like protein |
| LOC100138424 | XM_001787878.1 | Protein shisa-3 homolog |
| LOC100138522 | XM_001787835.2 | Uncharacterized LOC100138522 |
| LOC100138523 | XM_002686584.1 | Rcg55642-like |

| | | |
|--------------|--------------------|--|
| LOC100138641 | ENSBTAT00000035828 | Glutathione S-transferase A1-like |
| LOC100138645 | XM_002702221.1 | Primary amine oxidase, liver isozyme-like |
| LOC100138733 | XM_001787397.2 | Envelope polyprotein-like |
| LOC100138921 | XM_002691697.1 | Uncharacterized LOC100138921 |
| LOC100139041 | XM_002695657.1 | Hcg2045411-like |
| LOC100139238 | XM_001789089.1 | Matrilin 1, cartilage matrix protein-like |
| LOC100140018 | XM_001788131.2 | Cytochrome P450 2J2-like |
| LOC100140403 | XM_003586350.1 | Uncharacterized LOC100140403 |
| LOC100295089 | XM_002691394.1 | Uncharacterized LOC100295089 |
| LOC100295232 | XM_002703858.2 | Uncharacterized LOC100295232 |
| LOC100295298 | XM_002685287.2 | Uncharacterized LOC100295298 |
| LOC100295531 | XM_002702159.1 | Uncharacterized LOC100295531 |
| LOC100295688 | XM_002687291.1 | Uncharacterized LOC100295688 |
| LOC100295741 | XM_002697929.2 | Uncharacterized LOC100295741 |
| LOC100295883 | XM_002688556.1 | Cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 2-like |
| LOC100296018 | XM_002697801.1 | Uncharacterized LOC100296018 |
| LOC100296081 | XM_002703015.1 | Uncharacterized LOC100296081 |
| LOC100296173 | XM_002698619.1 | Beta defensin |
| LOC100296257 | XM_002704677.2 | Uncharacterized LOC100296257 |
| LOC100296273 | XM_003584616.1 | Butyrophilin, subfamily 1, member A1-like |
| LOC100296370 | XM_002704226.1 | Uncharacterized LOC100296370 |
| LOC100296596 | XM_002705027.1 | Uncharacterized LOC100296596 |
| LOC100296618 | XM_002702097.1 | Extracellular peptidase inhibitor-like |
| LOC100296742 | XM_002701118.1 | Beta-defensin 142 |
| LOC100296964 | XM_002701171.2 | Uncharacterized LOC100296964 |
| LOC100296992 | XM_002696429.2 | Uncharacterized LOC100296992 |
| LOC100297185 | XM_002690893.2 | Uncharacterized LOC100297185 |
| LOC100297903 | XM_002687717.1 | Uncharacterized LOC100297903 |
| LOC100298352 | XM_002698129.1 | Uncharacterized LOC100298352 |
| LOC100298364 | XM_002698640.1 | Defensin, beta 1-like |
| LOC100298507 | XM_002698083.1 | Uncharacterized LOC100298507 |
| LOC100298871 | XR_139124.1 | Thyroid receptor-interacting protein 6-like |
| LOC100298890 | XM_002688414.2 | High-mobility group 20A-like |
| LOC100299023 | XM_003583421.1 | Lectin, galactoside-binding, soluble, 14-like |
| LOC100299715 | XR_807450.1 | Fatty acid-binding protein, heart |
| LOC100299970 | XM_002692782.1 | Uncharacterized LOC100299970 |
| LOC100300738 | XM_002692136.1 | Uncharacterized LOC100300738 |
| LOC100301295 | XM_003587466.1 | UPF0450 protein c17orf58-like |
| LOC100301420 | XM_002683613.2 | Uncharacterized LOC100301420 |
| LOC100302586 | NM_001163727.1 | Uncharacterized LOC100302586 |
| LOC100335163 | XM_002701954.1 | Uncharacterized LOC100335163 |
| LOC100335181 | XM_002704532.1 | Uncharacterized LOC100335181 |
| LOC100335236 | XM_002703848.1 | Uncharacterized LOC100335236 |
| LOC100335341 | XM_002703250.1 | Chromosome 10 open reading frame 92-like |
| LOC100335353 | XM_002702948.2 | Uncharacterized LOC100335353 |
| LOC100335389 | XM_002705968.1 | Beta-defensin 33-like |

| | | |
|--------------|----------------|---|
| LOC100335418 | XM_002702261.1 | Inactive N-acetylated-alpha-linked acidic dipeptidase-like protein 2- |
| LOC100335511 | XM_002683762.1 | Complement factor H-like |
| LOC100335700 | XM_002707418.2 | Uncharacterized LOC100335700 |
| LOC100335727 | XM_003586752.1 | Ankyrin repeat domain-containing protein 26-like |
| LOC100335729 | XM_003586918.1 | Uncharacterized LOC100335729 |
| LOC100335754 | XM_003582845.1 | Uncharacterized LOC100335754 |
| LOC100335953 | XM_002696525.1 | Uncharacterized LOC100335953 |
| LOC100336001 | XM_003587146.1 | Uncharacterized LOC100336001 |
| LOC100336104 | XM_003587117.1 | Uncharacterized LOC100336104 |
| LOC100336106 | XR_138986.1 | Uncharacterized protein c17orf72-like |
| LOC100336139 | XM_002700903.1 | Uncharacterized LOC100336139 |
| LOC100336185 | XM_002703274.1 | Beta-defensin 1-like |
| LOC100336205 | XM_002706626.2 | Uncharacterized LOC100336205 |
| LOC100336209 | XM_002704156.1 | Uncharacterized LOC100336209 |
| LOC100336215 | XM_002703864.2 | Uncharacterized LOC100336215 |
| LOC100336225 | XM_002707101.1 | Uncharacterized LOC100336225 |
| LOC100336232 | XM_003585566.1 | Multidrug resistance-associated protein 4-like |
| LOC100336289 | XM_002707433.1 | Uncharacterized LOC100336289 |
| LOC100336302 | XM_002707434.1 | Uncharacterized LOC100336302 |
| LOC100336328 | XM_002698627.1 | Uncharacterized LOC100336328 |
| LOC100336336 | XM_002707070.1 | Uncharacterized LOC100336336 |
| LOC100336353 | XM_002707071.1 | Uncharacterized LOC100336353 |
| LOC100336368 | XM_003586008.1 | Uncharacterized LOC100336368 |
| LOC100336673 | XR_139335.1 | Uncharacterized LOC100336673 |
| LOC100336728 | XM_002698907.2 | Paladin-like |
| LOC100336791 | XM_002699229.1 | Opioid-binding protein/cell adhesion molecule-like |
| LOC100336854 | XM_003582607.1 | Uncharacterized LOC100336854 |
| LOC100336870 | XM_002690208.2 | 5'-nucleotidase, ecto (CD73)-like |
| LOC100336907 | XM_003584898.1 | Keratin 76-like |
| LOC100336928 | XM_002691712.1 | Neural proliferation, differentiation and control, 1-like |
| LOC100336929 | XM_002696601.2 | Zinc finger, AN1-type domain 6-like |
| LOC100336951 | XM_003586724.1 | Multidrug resistance-associated protein 4-like |
| LOC100336978 | XM_003584664.1 | Atp-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 4-like |
| LOC100336989 | XM_002688073.1 | Uncharacterized LOC100336989 |
| LOC100336996 | XM_002690215.1 | Protein tyrosine phosphatase, receptor type, K-like |
| LOC100337062 | XM_002688404.1 | Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 13-like |
| LOC100337070 | XM_002688033.1 | Uncharacterized LOC100337070 |
| LOC100337090 | XR_810473.1 | Ankyrin repeat domain-containing protein 26 |
| LOC100337109 | XM_002692965.1 | Rab-related GTP-binding protein-like |
| LOC100337113 | XM_003583438.1 | Uncharacterized LOC100337113 |
| LOC100337192 | XM_002688906.1 | G protein-coupled receptor 108-like |
| LOC100337198 | XM_003584356.1 | Uncharacterized LOC100337198 |
| LOC100337199 | XM_002695707.1 | Carboxypeptidase D-like |
| LOC100337214 | XM_003585163.1 | Lipid phosphate phosphatase-related protein type 3-like |
| LOC100337239 | XM_002696015.1 | Keratin-associated protein 4-7-like |
| LOC100337292 | XM_002691951.1 | Atp-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 4-like |

| | | |
|--------------|----------------|---|
| LOC100337312 | XM_003587048.1 | Complement factor H-like |
| LOC100337316 | XM_002691953.1 | ABCC4 protein-like |
| LOC100337478 | XM_002687387.2 | Glutamate receptor interacting protein 1-like |
| LOC100337497 | XM_002694597.1 | Phospholipase A2-like |
| LOC100847106 | XR_138915.1 | Uncharacterized LOC100847106 |
| LOC100847128 | XM_003581701.1 | Uncharacterized LOC100847128 |
| LOC100847142 | XM_003585810.1 | Uncharacterized LOC100847142 |
| LOC100847162 | XR_139655.1 | Uncharacterized LOC100847162 |
| LOC100847168 | XM_003583184.1 | Envelope glycoprotein gp70-like |
| LOC100847175 | XM_003586214.1 | C-X-C motif chemokine 15-like |
| LOC100847187 | XM_003587534.1 | Uncharacterized LOC100847187 |
| LOC100847229 | XR_138714.1 | Uncharacterized LOC100847229 |
| LOC100847237 | XM_003585986.1 | Uncharacterized LOC100847237 |
| LOC100847289 | XR_138772.1 | Uncharacterized LOC100847289 |
| LOC100847355 | XR_139654.1 | Dynein heavy chain 12, axonemal-like |
| LOC100847387 | XM_003581812.1 | Uncharacterized LOC100847387 |
| LOC100847427 | XR_138617.1 | Uncharacterized LOC100847427 |
| LOC100847448 | XM_003587505.1 | Uncharacterized LOC100847448 |
| LOC100847465 | XM_003585706.1 | Uncharacterized LOC100847465 |
| LOC100847467 | XM_003588081.1 | DDB1- and CUL4-associated factor 12-like protein 2-like |
| LOC100847472 | XR_139475.1 | Uncharacterized LOC100847472 |
| LOC100847503 | XM_003585895.1 | Uncharacterized LOC100847503 |
| LOC100847504 | XR_138770.1 | Uncharacterized LOC100847504 |
| LOC100847519 | XM_003588087.1 | Uncharacterized LOC100847519 |
| LOC100847551 | XR_138674.1 | Uncharacterized LOC100847551 |
| LOC100847560 | XM_003582698.1 | Uncharacterized LOC100847560 |
| LOC100847576 | XM_003583996.1 | BAI1-associated protein 3-like |
| LOC100847606 | XR_138816.1 | Uncharacterized LOC100847606 |
| LOC100847622 | XM_003581855.1 | Uncharacterized LOC100847622 |
| LOC100847724 | XM_003583536.1 | Extracellular peptidase inhibitor-like |
| LOC100847755 | XM_003584100.1 | Bbsome-interacting protein 1-like |
| LOC100847839 | XR_139535.1 | Uncharacterized LOC100847839 |
| LOC100847860 | XM_003582956.1 | Beta-defensin 128-like |
| LOC100847870 | XR_139316.1 | Uncharacterized LOC100847870 |
| LOC100847885 | XM_003582236.1 | Uncharacterized LOC100847885 |
| LOC100847940 | XR_139712.1 | Uncharacterized LOC100847940 |
| LOC100847976 | XM_003587461.1 | Uncharacterized LOC100847976 |
| LOC100847982 | XM_003582960.1 | Uncharacterized LOC100847982 |
| LOC100847983 | XM_003587167.1 | Uncharacterized LOC100847983 |
| LOC100847994 | XR_139501.1 | Uncharacterized LOC100847994 |
| LOC100848012 | XR_139666.1 | Uncharacterized LOC100848012 |
| LOC100848030 | XR_139241.1 | Uncharacterized LOC100848030 |
| LOC100848039 | XM_003586834.1 | Uncharacterized LOC100848039 |
| LOC100848051 | XR_139115.1 | Uncharacterized LOC100848051 |
| LOC100848065 | XM_003587939.1 | Beta-defensin 33-like |
| LOC100848071 | XM_003582805.1 | Uncharacterized LOC100848071 |

| | | |
|--------------|----------------|---|
| LOC100848075 | XR_139515.1 | Uncharacterized LOC100848075 |
| LOC100848080 | XM_003586107.1 | Uncharacterized LOC100848080 |
| LOC100848100 | XM_003587383.1 | Extracellular peptidase inhibitor-like |
| LOC100848114 | XM_003587941.1 | Uncharacterized LOC100848114 |
| LOC100848142 | XM_003587509.1 | Uncharacterized LOC100848142 |
| LOC100848213 | XM_003583308.1 | Uncharacterized LOC100848213 |
| LOC100848217 | XM_003584972.1 | Beta-defensin 33-like |
| LOC100848224 | XM_003584010.1 | Uncharacterized LOC100848224 |
| LOC100848227 | XR_139681.1 | Uncharacterized LOC100848227 |
| LOC100848228 | XM_003583194.1 | Ciliary neurotrophic factor-like |
| LOC100848238 | XM_003583741.1 | Pro-neuregulin-4, membrane-bound isoform-like |
| LOC100848254 | XM_003587975.1 | Uncharacterized LOC100848254 |
| LOC100848324 | XR_139547.1 | Uncharacterized LOC100848324 |
| LOC100848325 | XM_003585556.1 | Uncharacterized LOC100848325 |
| LOC100848357 | XM_003583551.1 | Uncharacterized LOC100848357 |
| LOC100848361 | XM_003585911.1 | Uncharacterized LOC100848361 |
| LOC100848369 | XM_003587733.1 | Uncharacterized LOC100848369 |
| LOC100848414 | XR_139346.1 | Uncharacterized LOC100848414 |
| LOC100848423 | XM_003582577.1 | Regulator of G-protein signaling 3-like |
| LOC100848454 | XM_003583587.1 | Keratin-associated protein 3-1-like |
| LOC100848469 | XR_139201.1 | Uncharacterized LOC100848469 |
| LOC100848505 | XR_139400.1 | Uncharacterized LOC100848505 |
| LOC100848527 | XM_003585714.1 | Uncharacterized LOC100848527 |
| LOC100848528 | XR_138645.1 | Uncharacterized LOC100848528 |
| LOC100848628 | XM_003583852.1 | Uncharacterized LOC100848628 |
| LOC100848639 | XM_003587554.1 | Uncharacterized LOC100848639 |
| LOC100848679 | XM_003582080.1 | Uncharacterized LOC100848679 |
| LOC100848747 | XM_003581693.1 | Uncharacterized LOC100848747 |
| LOC100848792 | XM_003583291.1 | Uncharacterized LOC100848792 |
| LOC100848801 | XM_003586909.1 | Protein TRIQK-like |
| LOC100848837 | XM_003581978.1 | Uncharacterized LOC100848837 |
| LOC100848865 | XM_003584137.1 | TPR repeat-containing protein c10orf93-like |
| LOC100848912 | XM_003586355.1 | Uncharacterized LOC100848912 |
| LOC100848925 | XR_138666.1 | Protein phosphatase 1J-like |
| LOC100848936 | XM_003586325.1 | Sperm-associated acrosin inhibitor-like |
| LOC100848947 | XM_003586609.1 | Zinc finger protein 184-like |
| LOC100848953 | XM_003587439.1 | Uncharacterized LOC100848953 |
| LOC100848992 | XM_003585840.1 | Uncharacterized LOC100848992 |
| LOC100849064 | XM_003587905.1 | Uncharacterized LOC100849064 |
| LOC100849137 | XR_138652.1 | Uncharacterized LOC100849137 |
| LOC100849204 | XM_003581977.1 | Guanylate-binding protein 4-like |
| LOC100849299 | XM_003582291.1 | Uncharacterized LOC100849299 |
| LOC100849469 | XM_003585336.1 | Envelope glycoprotein gp70-like |
| LOC100849633 | XR_138662.1 | Uncharacterized LOC100849633 |
| LOC100849728 | XM_003583613.1 | Uncharacterized LOC100849728 |
| LOC100849762 | XM_003583962.1 | Uncharacterized LOC100849762 |

| | | |
|--------------|--------------------|--|
| LOC100849957 | XM_003584705.1 | Neuronal PAS domain-containing protein 3-like |
| LOC100850046 | XM_003585147.1 | Syncoilin-like |
| LOC100850103 | XM_003585368.1 | Uncharacterized LOC100850103 |
| LOC100850482 | XM_003584848.1 | MOSC domain-containing protein 1, mitochondrial-like |
| LOC100850497 | XM_003582295.1 | Tetratricopeptide repeat protein 38-like |
| LOC100850865 | XM_003582349.1 | Uncharacterized LOC100850865 |
| LOC100850928 | XM_003581850.1 | Ankyrin repeat and protein kinase domain-containing protein 1-like |
| LOC100851026 | XM_003584902.1 | X-linked retinitis pigmentosa gtpase regulator-like |
| LOC100851083 | XM_003581936.1 | Protein S100-A1-like |
| LOC100851174 | XM_003584354.1 | Uncharacterized LOC100851174 |
| LOC100851275 | XM_003584905.1 | Serpin B5-like |
| LOC100851284 | XM_003582051.1 | Uncharacterized LOC100851284 |
| LOC100851309 | XM_003583132.1 | Olfactory receptor 52N4-like |
| LOC100851555 | XM_003582967.1 | Uncharacterized LOC100851555 |
| LOC100851574 | XR_139080.1 | Uncharacterized LOC100851574 |
| LOC100851724 | XM_003582231.1 | Uncharacterized LOC100851724 |
| LOC100851804 | XM_003585076.1 | Long-chain-fatty-acid--coa ligase 5-like |
| LOC100851833 | XM_003584991.1 | Spindle and kinetochore-associated protein 1-like |
| LOC100851852 | XM_003584910.1 | Amiloride-sensitive sodium channel subunit gamma-like |
| LOC100851894 | XM_003585174.1 | Leucine-rich repeat-containing protein 56-like |
| LOC100851896 | XM_003585498.1 | Uncharacterized LOC100851896 |
| LOC100852105 | XM_003585223.1 | Uncharacterized LOC100852105 |
| LOC100852274 | XM_003584145.1 | Beta-defensin 33-like |
| LOC100852322 | XM_003583629.1 | L-xylulose reductase-like |
| LOC100852323 | XM_003583786.1 | Villin-like protein-like |
| LOC100852349 | XR_138650.1 | Uncharacterized LOC100852349 |
| LOC100852378 | XR_139167.1 | Uncharacterized LOC100852378 |
| LOC101902961 | XR_817185.1 | Estradiol 17-beta-dehydrogenase 12-like |
| LOC101905369 | XM_005212262.2 | Centrosomal protein of 128 kda-like |
| LOC101905591 | XM_010816297.1 | Keratin, type I cytoskeletal 42 |
| LOC101907124 | XM_010803940.1 | Putative ciliary rootlet coiled-coil protein-like 3 protein |
| LOC282685 | NM_174712.2 | Rhesus-like protein |
| LOC505709 | XM_003587426.1 | Receptor tyrosine-protein kinase erbb-2-like |
| LOC506707 | XM_002693872.2 | Zona pellucida sperm-binding protein 3 receptor-like |
| LOC506831 | XM_611183.6 | Iq motif and ankyrin repeat domain-containing protein LOC642574-like |
| LOC507961 | ENSBTAT00000042617 | Uncharacterized protein |
| LOC508347 | XM_003581993.1 | Interferon-induced protein 44-like |
| LOC508486 | XM_003584034.1 | Serine/threonine-protein kinase/endoribonuclease IRE2-like |
| LOC509029 | XM_002696782.1 | Uncharacterized LOC509029 |
| LOC509114 | XM_002692585.2 | WD repeat-containing protein KIAA1875-like |
| LOC509457 | XM_001255634.3 | Wd repeat domain 73-like |
| LOC511103 | XM_588373.4 | Olfactory receptor 2J3-like |
| LOC511229 | XM_588526.5 | Caspase recruitment domain family, member 8-like |
| LOC511937 | XR_083847.2 | Annexin A1-like |
| LOC512612 | XM_002699033.3 | Histone H2B type 2-E |
| LOC512973 | XM_001787454.1 | Olfactory receptor, family 4, subfamily D, member 1-like |

| | | |
|-----------|----------------|---|
| LOC514457 | NG_030611.1 | Calmodulin 1 phosphorylase kinase, delta pseudogene |
| LOC515517 | XM_003587132.1 | La-related protein 1B-like |
| LOC515545 | XM_593580.5 | Olfactory receptor, family 8, subfamily A, member 1-like |
| LOC516074 | XM_594211.4 | Nucleoporin 62kda-like |
| LOC516736 | XM_003586710.1 | Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase TPTE2-like |
| LOC517108 | XM_595271.3 | Interferon, alpha 14-like |
| LOC519807 | XM_003585770.1 | Coiled-coil domain-containing protein 108-like |
| LOC521269 | XM_003586628.1 | Uncharacterized LOC521269 |
| LOC522004 | XM_003588011.1 | Ankyrin repeat domain-containing protein 42-like |
| LOC522845 | XM_002692111.1 | Ankyrin repeat domain 26-like |
| LOC522998 | XM_003584189.1 | Coiled-coil domain-containing protein 6-like |
| LOC524576 | XM_002687704.1 | Apolipoprotein L, 3-like |
| LOC524650 | NM_001040545.1 | EF hand calcium binding domain 1-like |
| LOC525407 | XM_003585657.1 | GPI mannosyltransferase 4-like |
| LOC525947 | NM_001046279.1 | Serotransferrin-like |
| LOC526041 | NM_001075880.1 | Ankyrin repeat domain protein |
| LOC526847 | XM_003587196.1 | Probable palmitoyltransferase ZDHHC8-like |
| LOC527119 | XM_003583303.1 | RIMS-binding protein 2-like |
| LOC530039 | XM_608502.5 | Dynein heavy chain at 16F-like |
| LOC531135 | XR_138889.1 | Olfactory receptor, family 52, subfamily P, member 1 pseudogene- |
| LOC532189 | XM_003587397.1 | Carboxypeptidase D-like |
| LOC532207 | XM_003585231.1 | Epididymis-specific alpha-mannosidase-like |
| LOC533033 | XM_003586440.1 | Whirlin-like |
| LOC535353 | XM_003586143.1 | Pleckstrin homology domain-containing family G member 6-like |
| LOC536117 | XM_003586574.1 | Centrosomal protein of 152 kda-like |
| LOC538435 | XM_002688850.2 | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1-like |
| LOC538699 | XR_083276.1 | TAF5-like RNA polymerase II p300/CBP-associated factor-associated |
| LOC538702 | NM_001046437.1 | Glycerol kinase 2-like |
| LOC538935 | XR_138727.1 | Polycystic kidney disease and receptor for egg jelly-related protein- |
| LOC539947 | XM_003586186.1 | CXXC-type zinc finger protein 4-like |
| LOC540222 | XR_082719.2 | Uncharacterized LOC540222 |
| LOC574091 | NM_001025347.1 | Nucleoside-diphosphate kinase NBR-A |
| LOC613743 | XM_003582931.1 | Uncharacterized LOC613743 |
| LOC613836 | XM_864999.5 | Glutathione-S-transferase omega 1-like |
| LOC614047 | NM_001040574.1 | Uncharacterized LOC614047 |
| LOC614396 | NM_001199075.1 | Uncharacterized LOC614396 |
| LOC614741 | XM_003587979.1 | Formin-2-like |
| LOC614768 | XM_003588147.1 | Protein POF1B-like |
| LOC614914 | XM_002693514.2 | Uncharacterized LOC614914 |
| LOC615992 | XM_881036.4 | Uncharacterized LOC615992 |
| LOC616289 | XM_002699944.1 | Dachshund 2-like |
| LOC616656 | XR_083530.1 | DDB1- and CUL4-associated factor 12-like protein 2-like |
| LOC616691 | XM_003587062.1 | Uncharacterized LOC616691 |
| LOC617011 | XM_869183.3 | Olfactory receptor, family 8, subfamily A, member 1-like |
| LOC617028 | XM_882441.4 | Uncharacterized LOC617028 |
| LOC617657 | XM_001789595.2 | Rab-related protein 3-like |

| | | |
|-----------|--------------------|---|
| LOC617833 | XM_002691127.1 | Mal, T-cell differentiation protein-like |
| LOC618824 | XM_871147.2 | Histone cluster 1, h2ai-like |
| LOC781114 | XM_001249501.3 | Uncharacterized LOC781114 |
| LOC781232 | XM_001249593.2 | Uncharacterized LOC781232 |
| LOC781251 | XR_082870.1 | Heat shock protein HSP 90-alpha-like |
| LOC781267 | XM_001249643.3 | Uncharacterized LOC781267 |
| LOC781339 | XR_083814.3 | Heat shock protein HSP 90-alpha pseudogene |
| LOC781439 | ENSBTAT00000003434 | Methyltransferase-like protein 7A |
| LOC781505 | XM_003583211.1 | Potassium channel subfamily T member 2-like |
| LOC782076 | XM_002687912.1 | Uncharacterized LOC782076 |
| LOC782174 | XM_001249668.3 | Beta-defensin 2-like |
| LOC782236 | XM_001250024.2 | Beta-defensin 2-like |
| LOC782264 | XR_083810.2 | MARCKS-related protein-like |
| LOC782487 | XM_002698634.1 | Defensin, beta 1-like |
| LOC782734 | XM_001787805.2 | Olfactory receptor 630-like |
| LOC782761 | XM_002688470.1 | Epididymis-specific alpha-mannosidase-like |
| LOC782960 | XR_084174.2 | Olfactory receptor 51L1-like |
| LOC783045 | XM_003586204.1 | Uncharacterized LOC783045 |
| LOC783205 | XM_002699211.1 | Olfactory receptor, family 8, subfamily A, member 1-like |
| LOC783226 | XM_001251870.4 | Regulator of microtubule dynamics protein 2-like |
| LOC783544 | XM_001249983.2 | Uncharacterized LOC783544 |
| LOC783604 | XM_002686250.2 | Guanylate-binding protein 4-like |
| LOC783616 | XM_002693234.2 | Olfactory receptor, family 51, subfamily L, member 1-like |
| LOC783716 | XR_803746.1 | Protein S100-A14 pseudogene |
| LOC783721 | XM_002685972.1 | Uncharacterized LOC783721 |
| LOC784087 | XR_082912.1 | Nuclear ubiquitous casein and cyclin-dependent kinases substrate-1-like |
| LOC784148 | XM_003582385.1 | Zinc finger protein 709-like |
| LOC784577 | XM_001250815.3 | Beta-defensin 2-like |
| LOC784718 | XM_001252946.1 | Uncharacterized LOC784718 |
| LOC784927 | XM_001787874.3 | Prostaglandin F synthase 1-like |
| LOC785010 | XM_002690444.1 | Myosin, heavy polypeptide 6, cardiac muscle, alpha-like |
| LOC785341 | XM_001788568.3 | Zinc finger protein 345-like |
| LOC785508 | XM_001253506.3 | Epoxide hydrolase 2, cytoplasmic-like |
| LOC785805 | XM_003585711.1 | Collagen alpha-5(VI) chain-like |
| LOC786151 | ENSBTAT00000047554 | Olfactory receptor, family 52, subfamily J, member 3-like |
| LOC786198 | XM_003582081.1 | Cadherin-related family member 3-like |
| LOC786234 | XM_001787812.1 | Testis expressed 9-like |
| LOC786248 | XM_001253994.4 | Complement component 4 binding protein, alpha chain-like |
| LOC786371 | XM_001254066.1 | Protein S100-A15A-like |
| LOC786556 | XM_001250914.3 | Beta-defensin 2-like |
| LOC786583 | XR_083905.2 | Uncharacterized LOC786583 |
| LOC786836 | NM_001206775.1 | Melanoma antigen family B, 2-like |
| LOC786961 | XM_010803250.1 | Acidic mammalian chitinase-like |
| LOC787138 | XR_138892.1 | Uncharacterized LOC787138 |
| LOC787246 | XM_001254702.1 | RING finger protein 11 pseudogene |
| LOC787564 | XM_003584764.1 | Uncharacterized LOC787564 |

| | | |
|-----------|----------------|---|
| LOC787901 | XM_001787313.3 | Olfactory receptor 52N4-like |
| LOC787988 | XM_002707694.2 | Olfactory receptor, family 52, subfamily N, member 4-like |
| LOC788334 | XM_002687703.1 | Apolipoprotein L, 3-like |
| LOC788520 | XM_003582918.1 | Phosphoribosyltransferase domain-containing protein 1-like |
| LOC788554 | XM_001255584.1 | Olfactory receptor, family 8, subfamily B, member 3-like |
| LOC788928 | XM_001787832.3 | Zinc finger protein 254-like |
| LOC789126 | XM_002694073.1 | Preferentially expressed antigen in melanoma-like |
| LOC789182 | XM_001788927.2 | PRAME family member 12-like |
| LOC789600 | XM_003585791.1 | Protein Wnt-4-like |
| LOC789893 | XM_002694696.1 | Uncharacterized LOC789893 |
| LOC790074 | XR_138960.1 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily B member 3-like |
| LOC790321 | XM_001256831.2 | Keratin, type I cytoskeletal 23-like |
| LONRF3 | NM_001191134.1 | LON peptidase N-terminal domain and ring finger 3 |
| LOXL4 | NM_174384.2 | Lysyl oxidase-like 4 |
| LPAR3 | NW_005394975.1 | Lysophosphatidic acid receptor 3 |
| LPCAT2 | NM_001205797.1 | Lysophosphatidylcholine acyltransferase 2 |
| LPHN3 | NM_181033.1 | Latrophilin 3 |
| LPL | NM_001075120.1 | Lipoprotein lipase |
| LRBA | XM_002701638.2 | LPS-responsive vesicle trafficking, beach and anchor containing |
| LRMP | XM_001790052.3 | Lymphoid-restricted membrane protein |
| LRRC20 | NM_001100387.1 | Leucine rich repeat containing 20 |
| LRRC34 | XM_590280.5 | Leucine rich repeat containing 34 |
| LRRC41 | NM_001045873.1 | Leucine rich repeat containing 41 |
| LRRC45 | NM_001191278.2 | Leucine rich repeat containing 45 |
| LRRIQ1 | NM_001191135.1 | Leucine-rich repeats and IQ motif containing 1 |
| LRRIQ3 | NM_001105391.1 | Leucine-rich repeats and IQ motif containing 3 |
| LUZP2 | XM_003584229.1 | Leucine zipper protein 2 |
| LY6E | NM_001046070.1 | Lymphocyte antigen 6 complex, locus E |
| LYPD1 | NM_001046359.1 | LY6/PLAUR domain containing 1 |
| LYZ3 | NM_174104.2 | Lysozyme 3 |
| MAD1L1 | NM_001102044.1 | MAD1 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast) |
| MAGEB4 | NM_001077050.1 | Melanoma antigen family B, 4 |
| MAGEF1 | NM_001102049.1 | Melanoma antigen family F, 1 |
| MAGEH1 | NM_001080728.1 | Melanoma antigen family H, 1 |
| MAGT1 | NM_001244318.1 | Magnesium transporter 1 |
| MAL2 | NM_001081719.1 | Mal, T-cell differentiation protein 2 (gene/pseudogene) |
| MAOA | NM_181014.2 | Monoamine oxidase A |
| MAP1LC3C | NM_001101058.1 | Microtubule-associated protein 1 light chain 3 gamma |
| MAP2 | NM_001205807.1 | Microtubule-associated protein 2 |
| MAP3K8 | NM_001099071.1 | Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 8 |
| MAPKBP1 | XM_002690805.1 | Mitogen-activated protein kinase binding protein 1 |
| MAPT | NM_174106.2 | Microtubule-associated protein tau |
| MARCH10 | NM_001192387.2 | Membrane-associated ring finger (C3HC4) 10 |
| MARCKSL1 | NM_001076172.1 | MARCKS-like 1 |
| MASP1 | NM_001076968.1 | Mannan-binding lectin serine peptidase 1 (C4/C2 activating component of the lectin pathway) |
| MAST1 | NM_001191528.1 | Microtubule associated serine/threonine kinase 1 |

| | | |
|-------------|--------------------|--|
| MATN4 | NM_001191311.1 | Matrilin 4 |
| MBOAT7 | NM_001075152.1 | Membrane bound O-acyltransferase domain containing 7 |
| MCC | NM_001083523.1 | Mutated in colorectal cancers |
| MCI | XM_002696330.1 | Idas protein |
| MCU | NM_001206102.1 | Mitochondrial calcium uniporter |
| MEGF9 | XM_003582585.1 | Multiple epidermal growth factor-like domains protein 9-like |
| MEIG1 | NM_001114524.2 | Meiosis/spermiogenesis associated 1 |
| METAP1D | NM_001046342.1 | Methionyl aminopeptidase type 1D (mitochondrial) |
| Metazoa_SRP | ENSBTAT00000064192 | Metazoan signal recognition particle RNA |
| METTL9 | NM_001080367.1 | Methyltransferase like 9 |
| MEX3B | XM_005221889.2 | Mex-3 RNA binding family member B |
| MFSD6L | NM_001102523.1 | Major facilitator superfamily domain containing 6-like |
| MGAT4C | NM_001205696.1 | MGAT4 family, member C |
| MGC126945 | NM_001076983.1 | Uncharacterized protein MGC126945 |
| MGC133804 | NM_001077122.1 | Uncharacterized protein MGC133804 |
| MGC134473 | NM_001077039.1 | Uncharacterized protein MGC134473 |
| MGC137030 | NM_001077081.1 | Uncharacterized protein MGC137030 |
| MGC137036 | NM_001077083.1 | Uncharacterized protein MGC137036 |
| MGC148318 | NR_038117.1 | Uncharacterized LOC782788 |
| MGC151671 | NM_001083712.1 | Uncharacterized LOC531076 |
| MGC152281 | NM_001101891.1 | Uncharacterized LOC507942 |
| MGMT | XM_001249417.3 | O-6-methylguanine-DNA methyltransferase |
| MGST1 | NM_001007815.1 | Microsomal glutathione S-transferase 1 |
| MGST2 | NM_001076382.1 | Microsomal glutathione S-transferase 2 |
| MGST3 | NM_001035046.1 | Microsomal glutathione S-transferase 3 |
| MID1IP1 | NM_001076383.1 | MID1 interacting protein 1 (gastrulation specific G12 homolog) |
| MILR1 | XM_002696100.1 | Mast cell immunoglobulin-like receptor 1 |
| MIR1251 | NR_031016.1 | Microrna mir-1251 |
| MIR147 | NR_031034.1 | Microrna mir-147 |
| MIR1839 | NR_031086.1 | Microrna mir-1839 |
| MIR2304 | NR_031113.1 | Microrna mir-2304 |
| MIR2348 | NR_031289.1 | Microrna mir-2348 |
| MIR2357 | ENSBTAT00000061717 | Microrna mir-2357 |
| MIR2428 | NR_030996.1 | Microrna mir-2428 |
| MIR2431 | ENSBTAT00000062651 | Microrna mir-2431 |
| MIR30F | ENSBTAT00000042215 | Microrna mir-30f |
| MKKS | NM_001206171.2 | Mckusick-Kaufman syndrome |
| MLC1 | NM_001076952.1 | Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts 1 |
| MMAB | NM_001079632.1 | Methylmalonic aciduria (cobalamin deficiency) cblb type |
| MME | NM_001192884.1 | Membrane metallo-endopeptidase |
| MNS1 | NM_001046338.2 | Meiosis-specific nuclear structural 1 |
| MOK | XM_002696774.1 | MOK protein kinase |
| MORC4 | ENSBTAT0000006967 | Uncharacterized protein |
| MPZL1 | NM_001076158.1 | Myelin protein zero-like 1 |
| MRAP | XM_582078.5 | Melanocortin 2 receptor accessory protein |
| MRCL | NM_001102034.1 | Mannose receptor-like precursor |

| | | |
|----------|---------------------|--|
| MRGPRD | XM_867774.2 | MAS-related GPR, member D |
| M-SAA3.2 | NM_001242573.1 | Mammary serum amyloid A3.2 |
| MSI2 | ENSBTAT00000005780 | Musashi homolog 2 (Drosophila) |
| MST1 | NM_001075677.1 | Macrophage stimulating 1 (hepatocyte growth factor-like) |
| MT1A | NM_001040492.2 | Metallothionein-1A |
| MT1E | NM_001114857.1 | Metallothionein 1E |
| MT2A | NM_001075140.1 | Metallothionein 2A |
| MT3 | NM_001113304.1 | Metallothionein 3 |
| MT4 | NM_001114859.1 | Metallothionein 4 |
| MTM1 | NM_001206425.1 | Myotubularin 1 |
| MUC12 | XM_001255139.3 | Mucin 12, cell surface associated |
| MUC15 | NM_176631.1 | Mucin 15, cell surface associated |
| MUC16 | XM_002688785.2 | Mucin 16, cell surface associated |
| MUC19 | XM_003586064.1 | Mucin 19 |
| MUC20 | XM_002684818.4 | Mucin 20, cell surface associated |
| MUC21 | XM_002697352.4 | Mucin 21, cell surface associated |
| MYCBPAP | XM_002695937.1 | MYCBP associated protein |
| MYH7 | NM_174727.1 | Myosin, heavy chain 7, cardiac muscle, beta |
| MYO15B | XR_082718.2 | Myosin XVB pseudogene |
| MYO18A | XM_597858.6 | Myosin XVIII A |
| MYO1D | NM_001075838.1 | Myosin ID |
| MYO5B | XM_002697821.2 | Myosin VB |
| MYO7A | XM_002693507.2 | Myosin VII A |
| MZB1 | NM_001098930.1 | Marginal zone B and B1 cell-specific protein |
| NAAA | NM_001100369.1 | N-acyl ethanolamine acid amidase |
| NAALADL2 | XM_002684912.1 | N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase-like 2 |
| NANS | NM_001046482.1 | N-acetylneuraminic acid synthase |
| NAPRT1 | NM_001098857.1 | Nicotinate phosphoribosyltransferase domain containing 1 |
| NARS2 | NM_001098867.1 | Asparaginyl-trna synthetase 2, mitochondrial (putative) |
| NAT14 | NM_001037245.1 | N-acetyltransferase 14 (GCN5-related, putative) |
| NAV3 | NM_001192669.2 | Neuron navigator 3 |
| NCAPD2 | XM_865639.3 | Uncharacterized LOC509171 |
| NCSTN | NM_001034475.1 | Nicastrin |
| NDE1 | NM_001100321.1 | Nude nuclear distribution gene E homolog 1 (A. Nidulans) |
| NDRG2 | NM_001035304.1 | NDRG family member 2 |
| NEK11 | XM_002685106.2 | NIMA (never in mitosis gene a)- related kinase 11 |
| NEK5 | XM_001788409.1 | NIMA (never in mitosis gene a)-related kinase 5 |
| NELL2 | NM_001102084.1 | NEL-like 2 (chicken) |
| NETO1 | NM_001192694.1 | Neuropilin (NRP) and tolloid (TLL)-like 1 |
| NFIX | ENSBTAT000000024262 | Nuclear factor I/X |
| NFKBIZ | NM_174726.1 | Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells |
| NHEDC1 | NM_001077892.2 | Solute carrier family 9, subfamily B (cation proton antiporter 2), |
| NHSL1 | NM_001191538.1 | NHS-like 1 |
| NMNAT2 | NM_001075486.1 | Nicotinamide nucleotide adenyltransferase 2 |
| NMU | NM_001191153.1 | Neuromedin U |
| NNAT | NM_178323.3 | Neuronatin |

| | | |
|---------|--------------------|---|
| NOD2 | NM_001002889.1 | Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 |
| NOS2 | NM_001076799.1 | Nitric oxide synthase 2, inducible |
| NOXA1 | NM_001102075.1 | NADPH oxidase activator 1 |
| NPAS3 | XM_605440.5 | Neuronal PAS domain protein 3 |
| NPC2 | NM_173918.2 | Niemann-Pick disease, type C2 |
| NPDC1 | NM_001105489.1 | Neural proliferation, differentiation and control, 1 |
| NPVF | NM_174168.1 | Neuropeptide VF precursor |
| NR1I2 | NM_001103226.1 | Nuclear receptor subfamily 1, group I, member 2 |
| NR3C1 | NM_001206634.1 | Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1 (glucocorticoid |
| NRBP2 | NM_001077848.2 | Nuclear receptor binding protein 2 |
| NSUN7 | XM_002688230.1 | NOP2/Sun domain family, member 7 |
| NT5C3 | NM_001037597.1 | 5'-nucleotidase, cytosolic III |
| NT5C3A | XM_005205471.2 | 5'-nucleotidase, cytosolic IIIA |
| NT5E | ENSBTAT00000015059 | 5'-nucleotidase, ecto (CD73) |
| NTN4 | NM_001102203.1 | Netrin 4 |
| NTRK3 | NM_001206483.1 | Neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 3 |
| NTSR2 | XM_586493.4 | Neurotensin receptor 2 |
| NUDC | NM_001075607.1 | Nuclear distribution gene C homolog (A. Nidulans) |
| NUDT12 | NM_001046608.1 | Nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 12 |
| NUDT14 | NM_001105652.1 | Nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 14 |
| NUDT16 | NM_001075560.1 | Nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 16 |
| NUDT4 | NM_001081618.1 | Nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 4 |
| O3FAR1 | XM_002698388.1 | Omega-3 fatty acid receptor 1 |
| OBFC2A | NM_001098124.1 | Oligonucleotide/oligosaccharide-binding fold containing 2A |
| ODF3 | NM_001080252.1 | Outer dense fiber of sperm tails 3 |
| OGT | NM_001098070.1 | O-linked N-acetylglucosamine (glcnac) transferase |
| OLFML2A | XM_002691603.1 | Olfactomedin-like 2A |
| OOEP | NM_001077869.1 | Oocyte expressed protein homolog (dog) |
| OPCML | NM_174407.2 | Opioid binding protein/cell adhesion molecule-like |
| OPRK1 | NM_001046480.1 | Opioid receptor, kappa 1 |
| OPTC | NM_205770.1 | Opticin |
| OR51E1 | XM_604996.2 | Olfactory receptor, family 51, subfamily E, member 1 |
| OR6Y1 | XM_002685938.1 | Olfactory receptor, family 6, subfamily Y, member 1 |
| OSTBETA | NM_001077867.1 | Organic solute transporter beta |
| OSTN | NM_001098935.1 | Osteocrin |
| OTOS | NM_001114525.1 | Otospiralin |
| OVOS2 | NM_001164024.1 | Ovostatin 2 |
| OXR1 | NM_001076148.1 | Oxidation resistance 1 |
| P2RX5 | XM_594012.5 | Purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 5 |
| P2RX6 | XM_002694647.2 | Purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 6 |
| P4HA1 | NM_001075770.1 | Prolyl 4-hydroxylase, alpha polypeptide I |
| P4HTM | NM_001076115.1 | Prolyl 4-hydroxylase, transmembrane (endoplasmic reticulum) |
| PACRGL | NM_001191517.1 | PARK2 co-regulated-like |
| PAFAH2 | NM_174570.2 | Platelet-activating factor acetylhydrolase 2, 40kda |
| PAG16 | NM_176625.1 | Pregnancy-associated glycoprotein 16 |
| PAK3 | NM_001205536.1 | P21 protein (Cdc42/Rac)-activated kinase 3 |

| | | |
|---------|--------------------|--|
| PAN3 | XM_003582865.1 | PAN3 poly(A) specific ribonuclease subunit homolog (S. Cerevisiae) |
| PARD3B | XM_005202765.2 | Par-3 family cell polarity regulator beta |
| PARD6A | NM_001046274.1 | Par-6 partitioning defective 6 homolog alpha (C. Elegans) |
| PARD6B | NM_001098104.1 | Par-6 partitioning defective 6 homolog beta (C. Elegans) |
| PARD6G | NM_001098100.1 | Par-6 partitioning defective 6 homolog gamma (C. Elegans) |
| PASK | XM_002686621.1 | PAS domain containing serine/threonine kinase |
| PAX6 | NM_001040645.1 | Paired box 6 |
| PC | NM_177946.3 | Pyruvate carboxylase |
| PCBD2 | XM_002704869.2 | Pterin-4 alpha-carbinolamine dehydratase/dimerization cofactor of |
| PCDH11Y | XM_002699764.1 | Protocadherin 11 Y-linked |
| PCDH20 | NM_001206231.1 | Protocadherin 20 |
| PCM1 | XM_864234.5 | Pericentriolar material 1 |
| PDE3B | XM_002693045.2 | Phosphodiesterase 3B, cgmp-inhibited |
| PDIA6 | NM_001206345.1 | Protein disulfide isomerase family A, member 6 |
| PDLIM4 | NM_001034491.1 | PDZ and LIM domain 4 |
| PEMT | NM_182989.2 | Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase |
| PFKFB3 | NM_001077837.1 | 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3 |
| PGA5 | NM_001001600.2 | Pepsinogen 5, group I (pepsinogen A) |
| PGBD5 | XM_002698769.1 | Piggybac transposable element derived 5 |
| PHF7 | XM_002697023.2 | PHD finger protein 7 |
| PHKG1 | NM_001046486.1 | Phosphorylase kinase, gamma 1 (muscle) |
| PHLPP1 | XM_002707786.1 | PH domain and leucine rich repeat protein phosphatase 1 |
| PHYHD1 | NM_001076243.1 | Phytanoyl-coa dioxygenase domain containing 1 |
| PIGM | NM_001015563.1 | Phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class M |
| PIGP | XM_010801719.1 | Phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class P |
| PIK3AP1 | XM_001790272.3 | Phosphoinositide-3-kinase adaptor protein 1 |
| PITPNC1 | XM_003583614.1 | Cytoplasmic phosphatidylinositol transfer protein 1-like |
| PKDREJ | ENSBTAT00000062977 | Polycystic kidney disease (polycystin) and REJ homolog (sperm |
| PKHD1L1 | XM_003583049.1 | Polycystic kidney and hepatic disease 1 (autosomal recessive)-like 1 |
| PLA2G1B | NM_174646.3 | Phospholipase A2, group IB (pancreas) |
| PLA2G4D | NM_001192704.1 | Phospholipase A2, group IVD (cytosolic) |
| PLA2G4F | NM_001192569.1 | Phospholipase A2, group IVF |
| PLAC8 | NM_001025325.1 | Placenta-specific 8 |
| PLCB4 | NM_174424.1 | Phospholipase C, beta 4 |
| PLCH1 | XM_002684989.2 | Phospholipase C, eta 1 |
| PLEKHD1 | NM_001205482.1 | Pleckstrin homology domain containing, family D (with coiled-coil |
| PLEKHF2 | NM_001098150.1 | Pleckstrin homology domain containing, family F (with FYVE |
| PLEKHG1 | NM_001205921.1 | Pleckstrin homology domain containing, family G (with rhogef |
| PLEKHG7 | XM_597636.4 | Pleckstrin homology domain containing, family G (with rhogef |
| PLEKHM1 | XM_003584779.1 | Pleckstrin homology domain containing, family M (with RUN |
| PLTP | NM_001035027.2 | Phospholipid transfer protein |
| PM20D2 | NM_001192533.1 | Peptidase M20 domain containing 2 |
| PNPLA4 | NM_001080363.1 | Patatin-like phospholipase domain containing 4 |
| POLM | NM_001035286.2 | Polymerase (DNA directed), mu |
| POLR3H | NM_001076962.1 | Polymerase (RNA) III (DNA directed) polypeptide H (22.9kd) |
| PON1 | NM_001046269.1 | Paraoxonase 1 |

| | | |
|-----------|--------------------|---|
| PON3 | NM_001075479.1 | Paraoxonase 3 |
| POU3F2 | NM_001080348.1 | POU class 3 homeobox 2 |
| PPM1K | NM_001046474.1 | Protein phosphatase, Mg ²⁺ /Mn ²⁺ dependent, 1K |
| PPP1R14C | NM_001078068.1 | Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 14C |
| PPP1R1A | NM_001130760.1 | Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 1A |
| PPP1R36 | XM_002691066.1 | Protein phosphatase 1, regulatory subunit 36 |
| PPP1R39 | NM_001083753.1 | Protein phosphatase 1, regulatory subunit 39 |
| PPP1R9A | NM_001076153.2 | Protein phosphatase 1, regulatory subunit 9A |
| PPP2R1B | XM_001788593.3 | Protein phosphatase 2, regulatory subunit A, beta |
| PRDX4 | NM_174433.2 | Peroxiredoxin 4 |
| PRDX6 | NM_174643.1 | Peroxiredoxin 6 |
| PRELP | NM_174434.2 | Proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein |
| PREPL | XM_001787857.3 | Prolyl endopeptidase-like |
| PRKCI | NM_001205955.1 | Protein kinase C, iota |
| PRKCZ | NM_001077833.1 | Protein kinase C, zeta |
| PRKD1 | XM_612625.6 | Protein kinase D1 |
| PRLR | NM_174155.2 | Prolactin receptor |
| PROCA1 | NM_001166568.1 | Protein interacting with cyclin A1 |
| PROM1 | NM_001245952.1 | Prominin 1 |
| PROX2 | NM_001192679.1 | Prospero homeobox 2 |
| PRPF40B | XM_002687284.2 | PRP40 pre-mrna processing factor 40 homolog B (S. Cerevisiae) |
| PRPH | NM_001102378.1 | Peripherin |
| PRR19 | NM_001075635.1 | Proline rich 19 |
| PRR5 | ENSBTAT00000011665 | Proline rich 5 (renal) |
| PRR5L | XM_003584911.1 | Proline rich 5 like |
| PRRT3 | XM_003583793.1 | Proline-rich transmembrane protein 3 |
| PRSS12 | NM_001193222.1 | Protease, serine, 12 (neurotrypsin, motopsin) |
| PRSS42 | NM_001114626.1 | Protease, serine, 42 |
| PRTN3 | XM_003585066.1 | Proteinase 3 |
| PSMD4 | NM_001013598.2 | Proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-atpase, 4 |
| PTER | NM_001101282.1 | Phosphotriesterase related |
| PTGFR | NM_181025.2 | Prostaglandin F receptor (FP) |
| PTK2B | NM_001102252.1 | PTK2B protein tyrosine kinase 2 beta |
| PTPN13 | NM_174590.3 | Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 13 (APO-1/CD95) |
| PTPN18 | ENSBTAT00000015484 | Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 18 |
| PTPN6 | NM_001098017.1 | Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 6 |
| PTPRK | NM_001191537.1 | Protein tyrosine phosphatase, receptor type, K |
| PTPRZ1 | NM_001192272.2 | Protein tyrosine phosphatase, receptor-type, Z polypeptide 1 |
| PVALB | NM_001076114.1 | Parvalbumin |
| PVRL4 | NM_001024494.1 | Poliovirus receptor-related 4 |
| PYGL | NM_001075203.1 | Phosphorylase, glycogen, liver |
| RAB11FIP2 | NM_001192771.1 | RAB11 family interacting protein 2 (class I) |
| RAB19 | NM_001035040.1 | RAB19, member RAS oncogene family |
| RAB20 | NM_001193089.1 | RAB20, member RAS oncogene family |
| RAB26 | NM_001046209.1 | RAB26, member RAS oncogene family |
| RAB6B | NM_001101129.1 | RAB6B, member RAS oncogene family |

| | | |
|----------|----------------|--|
| RABGGTA | NM_001015614.1 | Rab geranylgeranyltransferase, alpha subunit |
| RABL5 | NM_001015612.1 | RAB, member RAS oncogene family-like 5 |
| RAD54L | NM_001130766.1 | RAD54-like (<i>S. Cerevisiae</i>) |
| RAI2 | XM_586997.3 | Retinoic acid induced 2 |
| RALYL | NM_001077932.1 | RALY RNA binding protein-like |
| RAP1GAP | NM_001076888.1 | RAP1 gtpase activating protein |
| RAPGEF4 | NM_001192902.1 | Rap guanine nucleotide exchange factor (GEF) 4 |
| RASA4 | XM_003587839.1 | RAS p21 protein activator 4 |
| RASD1 | NM_001206261.1 | RAS, dexamethasone-induced 1 |
| RASGEF1B | NM_001083649.1 | Rasgef domain family, member 1B |
| RASSF4 | NM_001075454.1 | Ras association (ralgds/AF-6) domain family member 4 |
| RASSF9 | NM_001193083.2 | Ras association (ralgds/AF-6) domain family (N-terminal) member 9 |
| RAX2 | NM_182653.1 | Retina and anterior neural fold homeobox 2 |
| RBBP7 | NM_001034638.1 | Retinoblastoma binding protein 7 |
| RBL2 | NM_001098073.1 | Retinoblastoma-like 2 (p130) |
| RBM38 | NM_001206023.1 | RNA binding motif protein 38 |
| RCVRN | NM_174165.2 | Recoverin |
| REEP2 | NM_001046325.1 | Receptor accessory protein 2 |
| REEP6 | NM_001038135.1 | Receptor accessory protein 6 |
| REL | NM_001192970.1 | V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog (avian) |
| REPS2 | XM_002700366.1 | RALBP1 associated Eps domain containing 2 |
| RFX3 | XM_002689615.1 | Regulatory factor X, 3 (influences HLA class II expression) |
| RGS11 | NM_001075814.2 | Regulator of G-protein signaling 11 |
| RGS4 | NM_001046600.1 | Regulator of G-protein signaling 4 |
| RHBDD2 | NM_001046478.2 | Rhomboid domain containing 2 |
| RHBDL2 | NM_001102014.1 | Rhomboid, veinlet-like 2 (<i>Drosophila</i>) |
| RHOC | NM_001046138.1 | Ras homolog gene family, member C |
| RIC8B | XM_002687663.1 | Resistance to inhibitors of cholinesterase 8 homolog B (<i>C. Elegans</i>) |
| RIMS2 | NM_001102190.1 | Regulating synaptic membrane exocytosis 2 |
| RIPK4 | NM_001100327.1 | Receptor-interacting serine-threonine kinase 4 |
| RND1 | NM_001046016.1 | Rho family gtpase 1 |
| RNF128 | NM_001076071.1 | Ring finger protein 128, E3 ubiquitin protein ligase |
| RNF208 | XM_003584967.1 | Ring finger protein 208 |
| RNF217 | XM_002690065.1 | Ring finger protein 217 |
| RNF6 | NM_001098062.1 | Ring finger protein (C3H2C3 type) 6 |
| ROGDI | NM_001075452.1 | Rogdi homolog (<i>Drosophila</i>) |
| ROM1 | NM_174174.3 | Retinal outer segment membrane protein 1 |
| RP1 | NM_173958.1 | Retinitis pigmentosa 1 (autosomal dominant) |
| RPN1 | NM_001082605.1 | Ribophorin I |
| RPP21 | XM_003587701.1 | Ribonuclease P/MRP 21kda subunit |
| RPS6KA1 | NM_001083722.1 | Ribosomal protein S6 kinase, 90kda, polypeptide 1 |
| RRAGD | NM_001192828.1 | Ras-related GTP binding D |
| RYR3 | XM_590220.5 | Ryanodine receptor 3 |
| S100A12 | NM_174651.2 | S100 calcium binding protein A12 |
| S100A13 | NM_205800.1 | S100 calcium binding protein A13 |
| S100A14 | NM_001079634.1 | S100 calcium binding protein A14 |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| S100A16 | NM_001075218.1 | S100 calcium binding protein A16 |
| S100A8 | NM_001113725.1 | S100 calcium binding protein A8 |
| SAA1 | XM_867996.5 | Serum amyloid A1 |
| SAA2 | NM_001075260.2 | Serum amyloid A2 |
| SAA3 | NM_181016.3 | Serum amyloid A 3 |
| SAA4 | NM_001040505.1 | Serum amyloid A4, constitutive |
| SALL2 | NM_001102112.1 | Sal-like 2 (Drosophila) |
| SAMD12 | NM_001191180.1 | Sterile alpha motif domain containing 12 |
| SAP25 | XM_002698207.1 | Sin3A-associated protein, 25kda |
| SCARNA15 | ENSBTAT00000062642 | Small Cajal body specific RNA 15 |
| SCARNA17 | ENSBTAT00000062515 | Small Cajal body-specific RNA 17 |
| SCARNA18 | ENSBTAT00000061833 | Small Cajal body-specific RNA 18 |
| SCARNA2 | ENSBTAT00000065535 | Small Cajal body-specific RNA 2 |
| SCCPDH | NM_001034288.1 | Saccharopine dehydrogenase (putative) |
| SCEL | NM_001102332.1 | Sciellin |
| SCN9A | NM_001110787.1 | Sodium channel, voltage-gated, type IX, alpha subunit |
| SCNN1G | NM_001193174.1 | Sodium channel, nonvoltage-gated 1, gamma |
| SCRN1 | NM_001110803.1 | Secernin 1 |
| SDR16C5 | NM_001205933.1 | Short chain dehydrogenase/reductase family 16C, member 5 |
| SDR42E1 | NM_001080292.1 | Short chain dehydrogenase/reductase family 42E, member 1 |
| SEC62 | NM_001205604.1 | SEC62 homolog (S. Cerevisiae) |
| SELENBP1 | NM_001046048.1 | Selenium binding protein 1 |
| SERPINA1 | NM_173882.1 | Serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, |
| SERPINC1 | NM_001034698.1 | Serpin peptidase inhibitor, clade C (antithrombin), member 1 |
| SERPIND1 | NM_001105046.1 | Serpin peptidase inhibitor, clade D (heparin cofactor), member 1 |
| SFTPC | NM_174462.3 | Surfactant protein C |
| SFXN1 | NM_001015574.1 | Sideroflexin 1 |
| SFXN5 | NM_001075914.1 | Sideroflexin 5 |
| SGCA | NM_001013402.1 | Sarcoglycan, alpha (50kda dystrophin-associated glycoprotein) |
| SGK2 | NM_001075760.1 | Serum/glucocorticoid regulated kinase 2 |
| SH3YL1 | NM_001034607.1 | SH3 domain containing, Ysc84-like 1 (S. Cerevisiae) |
| SHF | XM_002690907.1 | Src homology 2 domain containing F |
| SHISA3 | NM_001205411.1 | Shisa homolog 3 (Xenopus laevis) |
| SHISA8 | XM_002687951.2 | Shisa homolog 8 (Xenopus laevis) |
| SHROOM1 | NM_001102294.1 | Shroom family member 1 |
| SHROOM3 | NM_001191524.1 | Shroom family member 3 |
| SIDT2 | NM_001024530.2 | SID1 transmembrane family, member 2 |
| SIRT3 | NM_001206669.1 | Sirtuin 3 |
| SKA1 | NM_001075327.2 | Spindle and kinetochore associated complex subunit 1 |
| SKAP2 | NM_001038214.1 | Src kinase associated phosphoprotein 2 |
| SLAMF9 | XM_864973.3 | SLAM family member 9 |
| SLC10A5 | XM_001253131.2 | Solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), |
| SLC10A7 | NM_001076292.1 | Solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), |
| SLC12A1 | XM_002690936.2 | Solute carrier family 12 (sodium/potassium/chloride transporters), |
| SLC13A4 | NM_001076884.1 | Solute carrier family 13 (sodium/sulfate symporters), member 4 |
| SLC14A1 | NM_001008666.1 | Solute carrier family 14 (urea transporter), member 1 (Kidd blood |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| SLC16A10 | NM_001192847.1 | Solute carrier family 16, member 10 (aromatic amino acid transporter) |
| SLC17A1 | XM_584165.6 | Solute carrier family 17 (sodium phosphate), member 1 |
| SLC1A4 | NM_001081577.1 | Solute carrier family 1 (glutamate/neutral amino acid transporter), member 4 |
| SLC1A5 | NM_174601.2 | Solute carrier family 1 (neutral amino acid transporter), member 5 |
| SLC20A2 | NM_001080280.1 | Solute carrier family 20 (phosphate transporter), member 2 |
| SLC22A5 | NM_001046502.1 | Solute carrier family 22 (organic cation/carnitine transporter), member 5 |
| SLC28A1 | NM_001037458.1 | Solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 1 |
| SLC29A3 | NM_001080223.1 | Solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 3 |
| SLC34A3 | XM_002691698.1 | Solute carrier family 34 (sodium phosphate), member 3 |
| SLC35A1 | NM_001034637.1 | Solute carrier family 35 (CMP-sialic acid transporter), member A1 |
| SLC35C2 | ENSBTAT00000039194 | Solute carrier family 35, member C2 |
| SLC36A2 | NM_001206180.1 | Solute carrier family 36 (proton/amino acid symporter), member 2 |
| SLC39A11 | XM_003583655.1 | Solute carrier family 39 (metal ion transporter), member 11 |
| SLC39A12 | NM_001076878.1 | Solute carrier family 39 (zinc transporter), member 12 |
| SLC39A14 | NM_001098036.1 | Solute carrier family 39 (zinc transporter), member 14 |
| SLC45A2 | XM_002696386.1 | Solute carrier family 45, member 2 |
| SLC46A1 | NM_001079585.1 | Solute carrier family 46 (folate transporter), member 1 |
| SLC46A2 | NM_001024519.1 | Solute carrier family 46, member 2 |
| SLC5A1 | NM_174606.2 | Solute carrier family 5 (sodium/glucose cotransporter), member 1 |
| SLC6A14 | NM_001098461.1 | Solute carrier family 6 (amino acid transporter), member 14 |
| SLC6A9 | NM_001102032.1 | Solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, glycine), member 9 |
| SLC9A10 | XM_615728.5 | Solute carrier family 9, member 10 |
| SLC9A11 | XM_001255171.2 | Solute carrier family 9, member 11 |
| SLC9A3 | NM_001192154.1 | Solute carrier family 9 (sodium/hydrogen exchanger), member 3 |
| SLITRK5 | XM_002691917.1 | SLIT and NTRK-like family, member 5 |
| SMPD3 | NM_001192363.1 | Sphingomyelin phosphodiesterase 3, neutral membrane (neutral sphingomyelinase 3) |
| SNAP25 | NM_001076246.1 | Synaptosomal-associated protein, 25kda |
| SNHG4 | NR_038087.1 | Small nucleolar RNA host gene 4 (non-protein coding) |
| SNORA12 | ENSBTAT00000060214 | Small nucleolar RNA SNORA12 |
| SNORA27 | ENSBTAT00000061980 | Small nucleolar RNA SNORA27 |
| SNORA48 | ENSBTAT00000059651 | Small nucleolar RNA SNORA48 |
| SNORA57 | ENSBTAT00000060871 | Small nucleolar RNA SNORA57 |
| SNORA67 | ENSBTAT00000059302 | Small nucleolar RNA SNORA67 |
| SNORA74 | ENSBTAT00000059607 | Small nucleolar RNA SNORA74 |
| SNORD116 | ENSBTAT00000061800 | Small nucleolar RNA SNORD116 |
| SNORD18 | ENSBTAT00000059225 | Small nucleolar RNA SNORD18 |
| SNORD89 | ENSBTAT00000060150 | Small nucleolar RNA SNORD89 |
| snoU109 | ENSBTAT00000061824 | Small nucleolar RNA U109 |
| snoU2_19 | ENSBTAT00000059862 | Small nucleolar RNA U2-19 |
| SNX25 | NM_001192758.1 | Sorting nexin 25 |
| SORCS1 | NM_001191207.2 | Sortilin-related VPS10 domain containing receptor 1 |
| SORD | NM_001037320.1 | Sorbitol dehydrogenase |
| SORL1 | NM_001192757.1 | Sortilin-related receptor, L(DLR class) A repeats containing |
| SORT1 | XM_002686189.2 | Sortilin 1 |
| SOX1 | XM_002691994.2 | SRY (sex determining region Y)-box 1 |
| SOX2 | NM_001105463.1 | SRY (sex determining region Y)-box 2 |

| | | |
|------------|--------------------|--|
| SOX9 | ENSBTAT00000063815 | SRY (sex determining region Y)-box 9 |
| SP9 | NM_001205839.1 | Sp9 transcription factor homolog (mouse) |
| SPA17 | NM_001076440.1 | Sperm autoantigenic protein 17 |
| SPAG1 | XM_002701247.2 | Sperm associated antigen 1 |
| SPAG16 | XM_002685561.3 | Sperm associated antigen 16 |
| SPAG8 | ENSBTAT00000015206 | Sperm associated antigen 8 |
| SPATA1 | XM_002686313.1 | Spermatogenesis associated 1 |
| SPATA13 | XM_003582868.1 | Spermatogenesis associated 13 |
| SPATA16 | XM_003581729.1 | Spermatogenesis associated 16 |
| SPATA24 | ENSBTAT00000023876 | Spermatogenesis associated 24 |
| SPATA6 | NM_001046371.2 | Spermatogenesis associated 6 |
| SPATS2 | NM_001193175.1 | Spermatogenesis associated, serine-rich 2 |
| SPCS2 | XM_001254329.3 | Signal peptidase complex subunit 2 homolog (S. Cerevisiae) |
| SPDEF | NM_001081578.1 | SAM pointed domain containing ets transcription factor |
| SPINK4 | NM_001114522.1 | Serine peptidase inhibitor, Kazal type 4 |
| SPRY4 | NM_001081512.1 | Sprouty homolog 4 (Drosophila) |
| SSBP4 | NM_001035273.1 | Single stranded DNA binding protein 4 |
| ST6GALNAC4 | NM_205791.1 | ST6 (alpha-N-acetyl-neuraminyl-2,3-beta-galactosyl-1,3)-N- |
| ST6GALNAC6 | NM_001001151.2 | ST6 (alpha-N-acetyl-neuraminyl-2,3-beta-galactosyl-1,3)-N- |
| ST8SIA1 | NM_001032299.1 | ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 1 |
| STEAP3 | XM_002685438.1 | STEAP family member 3, metalloredutcase |
| STEAP4 | XM_583351.4 | STEAP family member 4 |
| STK31 | XM_002686857.2 | Serine/threonine kinase 31 |
| STK33 | NM_001075908.1 | Serine/threonine kinase 33 |
| STOX1 | NM_001192127.1 | Storkhead box 1 |
| STRA8 | XM_001253649.1 | Stimulated by retinoic acid gene 8 homolog (mouse) |
| STRC | XM_606859.4 | Stereocilin |
| STS | NM_001075394.1 | Steroid sulfatase (microsomal), isozyme S |
| STX16 | XM_597848.3 | Syntaxin 16 |
| SUN3 | NM_001076084.2 | Sad1 and UNC84 domain containing 3 |
| SVIP | XM_002699074.1 | Small VCP/p97-interacting protein |
| SYCE3 | NM_001206333.1 | Synaptonemal complex central element protein 3 |
| SYCP2 | XM_001790634.2 | Synaptonemal complex protein 2 |
| SYNE1 | XM_003586487.1 | Spectrin repeat containing, nuclear envelope 1 |
| SYNGR2 | NM_001100358.1 | Synaptogyrin 2 |
| SYNPR | NM_001046506.1 | Synaptoporin |
| SYT17 | NM_001193210.1 | Synaptotagmin XVII |
| SYT4 | NM_001098108.1 | Synaptotagmin IV |
| TACC2 | XM_003587903.1 | Transforming, acidic coiled-coil containing protein 2 |
| TACSTD2 | XM_002686363.1 | Tumor-associated calcium signal transducer 2 |
| TAPT1 | XM_002688468.2 | Transmembrane anterior posterior transformation 1 |
| TASP1 | NM_001034577.2 | Taspase, threonine aspartase, 1 |
| TBC1D16 | NM_001206271.1 | TBC1 domain family, member 16 |
| TBC1D9 | XM_003585458.1 | TBC1 domain family, member 9 (with GRAM domain) |
| TBX2 | NM_001191443.1 | T-box 2 |
| TCEA3 | NM_001046360.1 | Transcription elongation factor A (SII), 3 |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| TCEANC | NM_001024472.2 | Transcription elongation factor A (SII) N-terminal and central domain containing 1 |
| TCF7L1 | XM_002691408.3 | Transcription factor 7-like 1 (T-cell specific, HMG-box) |
| TCHH | XM_002703861.2 | Trichohyalin |
| TCP11 | XM_600614.5 | T-complex 11 homolog (mouse) |
| TCP11L2 | NM_001105431.1 | T-complex 11 (mouse)-like 2 |
| TCTEX1D2 | NM_001166555.1 | Tctex1 domain containing 2 |
| TDP2 | NM_001105341.1 | Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 2 |
| TDRD10 | XM_870113.3 | Tudor domain containing 10 |
| TEAD2 | NM_001103347.1 | TEA domain family member 2 |
| TEX2 | NM_001101970.1 | Testis expressed 2 |
| TEX22 | XM_002696796.1 | Testis expressed 22 |
| TFAP2B | NM_001076247.1 | Transcription factor AP-2 beta (activating enhancer binding protein 2) |
| TGM7 | XM_002696747.2 | Transglutaminase 7 |
| THG1L | NM_001080233.1 | Trna-histidine guanylyltransferase 1-like (S. Cerevisiae) |
| THRA | NM_001046329.1 | Thyroid hormone receptor, alpha |
| TIGD4 | XM_002694314.1 | Tigger transposable element derived 4 |
| TM4SF5 | NM_001046102.1 | Transmembrane 4 L six family member 5 |
| TM9SF1 | NM_001083743.1 | Transmembrane 9 superfamily member 1 |
| TM9SF2 | NM_001205323.1 | Transmembrane 9 superfamily member 2 |
| TMBIM6 | NM_001076414.1 | Transmembrane BAX inhibitor motif containing 6 |
| TMC4 | NM_001110440.1 | Transmembrane channel-like 4 |
| TMC5 | XM_002697978.1 | Transmembrane channel-like 5 |
| TMC6 | NM_001075208.1 | Transmembrane channel-like 6 |
| TMEM120B | NM_001101908.1 | Transmembrane protein 120B |
| TMEM132A | NM_001102237.1 | Transmembrane protein 132A |
| TMEM150C | NM_001078001.1 | Transmembrane protein 150C |
| TMEM151A | NM_001083782.1 | Transmembrane protein 151A |
| TMEM182 | NM_001083784.1 | Transmembrane protein 182 |
| TMEM190 | NM_001205559.1 | Transmembrane protein 190 |
| TMEM200A | ENSBTAT00000053029 | Transmembrane protein 200A |
| TMEM205 | NM_001037599.1 | Transmembrane protein 205 |
| TMEM209 | XM_002686941.2 | Transmembrane protein 209 |
| TMEM216 | NM_001166563.1 | Transmembrane protein 216 |
| TMEM218 | NM_001099159.1 | Transmembrane protein 218 |
| TMEM246 | NM_001102342.1 | Transmembrane protein 246 |
| TMEM30B | XM_002691040.2 | Transmembrane protein 30B |
| TMEM52 | XM_002694183.1 | Transmembrane protein 52 |
| TMEM66 | NM_001076856.1 | Transmembrane protein 66 |
| TMEM67 | ENSBTAT00000061587 | Transmembrane protein 67 |
| TMEM74 | XM_590746.2 | Transmembrane protein 74 |
| TMEM89 | NM_001111068.1 | Transmembrane protein 89 |
| TNFSF9 | XM_002688880.1 | Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 9 |
| TNS4 | NM_001038155.1 | Tensin 4 |
| TOB2 | NM_001083387.1 | Transducer of ERBB2, 2 |
| TOP1MT | XM_003583025.1 | Topoisomerase (DNA) I, mitochondrial |
| TOX2 | NM_001206689.1 | TOX high mobility group box family member 2 |

| | | |
|---------|--------------------|--|
| TP53I3 | NM_001075378.1 | Tumor protein p53 inducible protein 3 |
| TPD52L1 | NM_001076033.1 | Tumor protein D52-like 1 |
| TPK1 | NM_001080370.1 | Thiamin pyrophosphokinase 1 |
| TPM1 | NM_001013590.2 | Tropomyosin 1 (alpha) |
| TPST2 | NM_001035429.1 | Tyrosylprotein sulfotransferase 2 |
| TRAPPC9 | NM_001037474.1 | Trafficking protein particle complex 9 |
| TRIM14 | XM_600917.4 | Tripartite motif containing 14 |
| TRIM29 | NM_001099379.1 | Tripartite motif containing 29 |
| TRIM36 | NM_001206726.1 | Tripartite motif containing 36 |
| TRIM38 | NM_001034574.1 | Tripartite motif containing 38 |
| TRIM47 | NM_001193197.1 | Tripartite motif containing 47 |
| TRIM55 | NM_001046579.1 | Tripartite motif containing 55 |
| TRIM8 | NM_001191476.1 | Tripartite motif containing 8 |
| TSC22D4 | NM_001075860.1 | TSC22 domain family, member 4 |
| TSPAN1 | NM_001034270.1 | Tetraspanin 1 |
| TSPYL1 | NM_001076111.1 | TSPY-like 1 |
| TSPYL4 | NM_001101064.1 | TSPY-like 4 |
| TSSK3 | NM_001206825.1 | Testis-specific serine kinase 3 |
| TTC29 | NM_001099073.1 | Tetratricopeptide repeat domain 29 |
| TTC30B | NM_001099091.1 | Tetratricopeptide repeat domain 30B |
| TTC34 | XM_002694179.1 | Tetratricopeptide repeat domain 34 |
| TTC8 | XM_002691089.2 | Tetratricopeptide repeat domain 8 |
| TUBA1D | NM_001046410.1 | Tubulin, alpha 3d |
| TUBA4A | NM_001078158.1 | Tubulin, alpha 4a |
| TUBA8 | NM_001077095.1 | Tubulin, alpha 8 |
| TUBE1 | NM_001101962.1 | Tubulin, epsilon 1 |
| TULP2 | NM_001098873.1 | Tubby like protein 2 |
| U12 | ENSBTAT00000060835 | U12 minor spliceosomal RNA |
| U5 | ENSBTAT00000061810 | U5 spliceosomal RNA |
| U6 | ENSBTAT00000062385 | U6 spliceosomal RNA |
| U6atac | ENSBTAT00000062878 | U6atac minor spliceosomal RNA |
| UBE2A | NM_001105325.1 | Ubiquitin-conjugating enzyme E2A |
| UBE2Q1 | NM_001206320.1 | Ubiquitin-conjugating enzyme E2Q family member 1 |
| UBXN2B | NM_001206828.1 | UBX domain protein 2B |
| UGT8 | NM_001083635.1 | UDP glycosyltransferase 8 |
| UNC5A | XM_582427.6 | Unc-5 homolog A (C. Elegans) |
| UPF1 | XM_001789911.3 | UPF1 regulator of nonsense transcripts homolog (yeast) |
| UPK3BL | NM_001168011.1 | Uroplakin 3B-like |
| UROS | NM_001110086.1 | Uroporphyrinogen III synthase |
| USH1C | NM_001035382.1 | Usher syndrome 1C (autosomal recessive, severe) |
| USO1 | NM_174845.2 | USO1 vesicle docking protein homolog (yeast) |
| USP27X | NM_001145075.1 | Ubiquitin specific peptidase 27, X-linked |
| USP43 | XM_583534.6 | Ubiquitin specific peptidase 43 |
| UTF1 | ENSBTAT00000034863 | Undifferentiated embryonic cell transcription factor 1 |
| Vault | ENSBTAT00000040740 | Vault RNA |
| VILL | NM_001191121.2 | Villin-like |

| | | |
|---------|--------------------|--|
| VMA21 | NM_001081616.1 | VMA21 vacuolar H ⁺ -atpase homolog (S. Cerevisiae) |
| VN1R1 | XM_001256784.1 | Vomeronasal 1 receptor 1 |
| VNN1 | NM_001024556.2 | Vanin 1 |
| VWA3B | ENSBTAT00000048703 | Von Willebrand factor A domain containing 3B |
| VWA5A | XM_600048.4 | Von Willebrand factor A domain containing 5A |
| WDR17 | XM_001789371.3 | WD repeat domain 17 |
| WDR34 | NM_001206205.1 | WD repeat domain 34 |
| WDR38 | NM_001163946.1 | WD repeat domain 38 |
| WDR52 | ENSBTAT00000018490 | WD repeat domain 52 |
| WDR60 | XM_001788938.2 | WD repeat domain 60 |
| WDR78 | XM_002703952.2 | WD repeat domain 78 |
| WDR93 | NM_001075722.1 | WD repeat domain 93 |
| WDR96 | NM_001205849.1 | WD repeat domain 96 |
| WFDC2 | NM_001076490.1 | WAP four-disulfide core domain 2 |
| WFIKKN2 | NM_001076885.1 | WAP, follistatin/kazal, immunoglobulin, kunitz and netrin domain |
| WWC1 | XM_002689366.2 | WW and C2 domain containing 1 |
| ZBBX | XM_010801441.1 | Zinc finger, B-box domain containing |
| ZBED1 | XM_002700428.2 | Zinc finger, BED-type containing 1 |
| ZCCHC12 | NM_001076197.1 | Zinc finger, CCHC domain containing 12 |
| ZDHH1 | NM_001075747.1 | Zinc finger, DHHC-type containing 1 |
| ZDHH11 | XM_869440.3 | Zinc finger, DHHC-type containing 11-like |
| ZDHH21 | NM_001081534.1 | Zinc finger, DHHC-type containing 21 |
| ZFAND6 | NM_001034460.1 | Zinc finger, AN1-type domain 6 |
| ZKSCAN1 | NM_001205510.1 | Zinc finger with KRAB and SCAN domains 1 |
| ZKSCAN4 | XM_588389.5 | Zinc finger with KRAB and SCAN domains 4 |
| ZMAT1 | XM_580720.4 | Zinc finger, matrin-type 1 |
| ZMIZ1 | XM_868846.5 | Zinc finger, MIZ-type containing 1 |
| ZNF215 | NM_001076882.2 | Zinc finger protein 215 |
| ZNF219 | XM_867319.3 | Zinc finger protein 219 |
| ZNF266 | NM_001104968.1 | Zinc finger protein 266 |
| ZNF331 | NM_001103251.1 | Zinc finger protein 331 |
| ZNF415 | XM_609543.5 | Zinc finger protein 415 |
| ZNF518B | XM_002688457.1 | Zinc finger protein 518B |
| ZNF536 | XM_002694850.2 | Zinc finger protein 536 |
| ZNF577 | XM_003583466.1 | Zinc finger protein 577 |
| ZNF696 | XM_002701165.2 | Zinc finger protein 696 |
| ZNF804B | NM_001191503.1 | Zinc finger protein 804B |
| ZNF813 | XM_002695323.2 | Zinc finger protein 813 |
| ZPBP | NM_001038611.1 | Zona pellucida binding protein |
| ZSWIM2 | NM_001192467.1 | Zinc finger, SWIM-type containing 2 |
| ZSWIM3 | XM_002692345.1 | Zinc finger, SWIM-type containing 3 |

Anexo III Listado de genes agrupados (SOTA2)

| Símbolo oficial | Acceso | Nombre |
|-----------------|--------------------|------------------|
| 5S_rRNA | ENSBTAT00000049451 | 5S ribosomal RNA |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| 7SK | ENSBTAT00000061795 | 7sk rna |
| A2M | NM_001109795.1 | Alpha-2-macroglobulin |
| A4GALT | ENSBTAT00000037673 | Alpha 1,4-galactosyltransferase |
| ABCA10 | XM_001789465.3 | ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 10 |
| ABCA6 | XM_002696225.1 | ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 6 |
| ABCB4 | XM_001251122.1 | ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 4 |
| ABCC5 | ENSBTAT00000023496 | ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 5 |
| ABHD4 | NM_001034368.1 | Abhydrolase domain containing 4 |
| ABHD5 | NM_001076063.1 | Abhydrolase domain containing 5 |
| ABI3BP | XM_010801064.1 | ABI family, member 3 (NESH) binding protein |
| ABLIM1 | XM_002698530.2 | Actin binding LIM protein 1 |
| ABLIM3 | NM_001099127.1 | Actin binding LIM protein family, member 3 |
| ACAP3 | NM_001083687.1 | Arfgap with coiled-coil, ankyrin repeat and PH domains 3 |
| ACE2 | NM_001024502.2 | Angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 2 |
| ACRBP | XM_002687869.1 | Acrosin binding protein |
| ACTA2 | NM_001034502.1 | Actin, alpha 2, smooth muscle, aorta |
| ACTBL2 | XM_010816767.1 | Actin, beta-like 2 |
| ACTN2 | NM_001034635.1 | Actinin, alpha 2 |
| ADAM10 | NM_174496.2 | ADAM metallopeptidase domain 10 |
| ADAM9 | NM_001192818.2 | ADAM metallopeptidase domain 9 |
| ADAMTSL2 | NM_001205934.1 | ADAMTS-like 2 |
| Adamts15 | ENSBTAT00000008750 | Adamts15 |
| ADD3 | NM_001075194.1 | Adducin 3 (gamma) |
| AEBP1 | NM_174839.3 | AE binding protein 1 |
| AFF3 | XM_002691147.2 | AF4/FMR2 family, member 3 |
| AGRP | NM_173983.1 | Agouti related protein homolog (mouse) |
| AHNAK2 | XM_002696792.3 | AHNAK nucleoprotein 2 |
| AIDA | NM_001205634.1 | Axin interactor, dorsalization associated |
| AIF1 | NM_173985.2 | Allograft inflammatory factor 1 |
| AKAP2 | NM_001193034.2 | A kinase (PRKA) anchor protein 2 |
| AKAP4 | NM_174235.1 | A kinase (PRKA) anchor protein 4 |
| AKAP5 | NM_174236.1 | A kinase (PRKA) anchor protein 5 |
| ALOX12 | NM_001192336.1 | Arachidonate 12-lipoxygenase |
| ALOX12B | NM_001192038.1 | Arachidonate 12-lipoxygenase, 12R type |
| ALOX5 | NM_001192792.1 | Arachidonate 5-lipoxygenase |
| AMOTL2 | XM_002685085.2 | Angiomotin like 2 |
| AMPH | NM_001098130.1 | Amphiphysin |
| ANG | ENSBTAT00000026126 | Angiogenin, ribonuclease, rnase A family, 5 |
| ANGPT1 | NM_001076797.1 | Angiopoietin 1 |
| ANGPTL2 | NM_001109814.1 | Angiopoietin-like 2 |
| ANGPTL6 | NM_001128070.1 | Angiopoietin-like 6 |
| ANK1 | NM_001104962.1 | Ankyrin 1, erythrocytic |
| ANKRD50 | NM_001205949.1 | Ankyrin repeat domain 50 |
| ANKRD9 | NM_001102144.1 | Ankyrin repeat domain 9 |
| ANXA5 | NM_001040477.3 | Annexin A5 |
| ANXA6 | NM_001103224.1 | Annexin A6 |

| | | |
|-----------------|--------------------|---|
| AOX1 | NM_176668.2 | Aldehyde oxidase 1 |
| APOA1 | NM_174242.3 | Apolipoprotein A-I |
| APOBEC3B | NM_001077845.1 | Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3B |
| ARAP3 | XM_003586307.1 | Arfgap with rhogap domain, ankyrin repeat and PH domain 3 |
| ARHGAP42 | XM_003584766.1 | Rho gtpase activating protein 42 |
| ARHGEF11 | XM_588515.5 | Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 11 |
| ARL10 | NM_001076320.1 | ADP-ribosylation factor-like 10 |
| ARL11 | NM_001192342.1 | ADP-ribosylation factor-like 11 |
| ARL4C | NM_001102348.1 | ADP-ribosylation factor-like 4C |
| ARMCX1 | NM_001075167.1 | Armadillo repeat containing, X-linked 1 |
| ARSE | NM_001097988.1 | Arylsulfatase E (chondrodysplasia punctata 1) |
| ARSJ | XM_611819.3 | Arylsulfatase family, member J |
| ASAP1 | NM_175821.2 | Arfgap with SH3 domain, ankyrin repeat and PH domain 1 |
| ASB16 | NM_001101188.1 | Ankyrin repeat and SOCS box containing 16 |
| ASB2 | NM_001034669.1 | Ankyrin repeat and SOCS box containing 2 |
| ASB9 | NM_001191166.1 | Ankyrin repeat and SOCS box containing 9 |
| ASCL2 | NM_001040607.1 | Achaete-scute complex homolog 2 (Drosophila) |
| ATP6V0D1 | NM_174505.2 | Atpase, H+ transporting, lysosomal 38kda, V0 subunit d1 |
| ATP6V0E2 | NM_001097574.1 | Atpase, H+ transporting V0 subunit e2 |
| ATP8B1 | NM_001192839.1 | Atpase, aminophospholipid transporter, class I, type 8B, member 1 |
| ATRX | XM_592333.6 | Alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked |
| AVPI1 | NM_001034760.1 | Arginine vasopressin-induced 1 |
| B3GALT | XM_002691759.2 | Beta 1,3-galactosyltransferase-like |
| B4GALNT1 | NM_001017943.1 | Beta-1,4-N-acetyl-galactosaminyl transferase 1 Xylosylprotein beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 7 (galactosyltransferase I) |
| B4GALT7 | NM_001075321.1 | Beta-1,4-galactosyltransferase 7 |
| BACE1 | NM_001046531.1 | Beta-site APP-cleaving enzyme 1 |
| BACE2 | NM_001206062.1 | Beta-site APP-cleaving enzyme 2 |
| BACH1 | XM_002684612.2 | BTB and CNC homology 1, basic leucine zipper transcription factor 1 |
| BANK1 | ENSBTAT00000020342 | B-cell scaffold protein with ankyrin repeats 1 |
| BATF | NM_001206278.1 | Basic leucine zipper transcription factor, ATF-like |
| BCAR1 | NM_001206698.1 | Breast cancer anti-estrogen resistance 1 |
| BNBD-9-LIKE | XM_003587938.1 | Neutrophil beta-defensin-9 like peptide |
| BOK | NM_001098868.1 | BCL2-related ovarian killer |
| BPI | NM_173895.2 | Bactericidal/permeability-increasing protein |
| bta-mir-199c | ENSBTAT00000061883 | Bta-mir-199c |
| bta-mir-2284y-4 | ENSBTAT00000062111 | Bta-mir-2284y-4 |
| bta-mir-2416 | ENSBTAT00000063146 | Bta-mir-2416 |
| bta-mir-339a | ENSBTAT00000062263 | Bta-mir-339a |
| BTBD16 | NM_001038131.1 | BTB (POZ) domain containing 16 |
| C10H14orf1 | NM_001035423.1 | Chromosome 10 open reading frame, human c14orf1 |
| C10H14orf37 | NM_001038060.1 | Chromosome 10 open reading frame, human c14orf37 |
| C14orf159 | ENSBTAT00000061238 | Chromosome 14 open reading frame 159 |
| C16H1orf115 | NM_001205383.2 | Chromosome 16 open reading frame, human c1orf115 |
| C18H19orf33 | NM_001207046.1 | Chromosome 18 open reading frame, human c19orf33 |
| C19H17orf79 | NM_001098894.1 | Chromosome 19 open reading frame, human c17orf79 |
| C1orf186 | ENSBTAT00000011220 | Chromosome 1 open reading frame 186 |

| | | |
|--------------|--------------------|---|
| C1QL1 | NM_001205862.1 | Complement component 1, q subcomponent-like 1 |
| C1QTNF1 | NM_001083409.1 | C1q and tumor necrosis factor related protein 1 |
| C1QTNF3 | NM_001101138.1 | C1q and tumor necrosis factor related protein 3 |
| C21H15orf38 | NM_001076304.1 | UPF0552 protein c15orf38 homolog |
| C22H3orf18 | NM_001101260.1 | Chromosome 22 open reading frame, human c3orf18 |
| C22H3orf32 | XR_084026.2 | Chromosome 22 open reading frame, human c3orf32 |
| C23H6orf52 | NR_026726.1 | Chromosome 23 open reading frame, human c6orf52 |
| C25H16orf5 | NM_001014892.1 | Chromosome 25 open reading frame, human c16orf5 |
| C26H10orf131 | XM_002698480.2 | Chromosome 26 open reading frame, human c10orf131 |
| C2CD4B | NM_001046307.1 | C2 calcium-dependent domain containing 4B |
| C3H1orf162 | XM_003585873.1 | Chromosome 3 open reading frame, human c1orf162 |
| C3orf32 | ENSBTAT00000007151 | Chromosome 3 open reading frame 32 |
| C5H12orf5 | NM_001076370.1 | Chromosome 5 open reading frame, human c12orf5 |
| C5H22orf28 | NM_001015631.2 | Chromosome 5 open reading frame, human c22orf28 |
| C8A | NM_001046285.1 | Complement component 8, alpha polypeptide |
| C8H9orf91 | NM_001024561.2 | Chromosome 8 open reading frame, human c9orf91 |
| CA1 | NM_001075466.1 | Carbonic anhydrase I |
| CABLES1 | XM_002697726.2 | Cdk5 and Abl enzyme substrate 1 |
| CADM3 | NM_001075946.1 | Cell adhesion molecule 3 |
| CALD1 | NM_174258.2 | Caldesmon 1 |
| CAP1 | XM_005204659.2 | CAP, adenylate cyclase-associated protein 1 (yeast) |
| CAPG | NM_178574.2 | Capping protein (actin filament), gelsolin-like |
| CAPRIN2 | XM_871851.3 | Caprin family member 2 |
| CARD11 | NM_001109796.1 | Caspase recruitment domain family, member 11 |
| CARD9 | NM_001077111.1 | Caspase recruitment domain family, member 9 |
| CASP1 | XM_592026.4 | Caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1, beta, convertase) |
| CBFA2T3 | XM_001251963.3 | Core-binding factor, runt domain, alpha subunit 2; translocated to, 3 |
| CBR1 | NM_001034513.1 | Carbonyl reductase 1 |
| CBR3 | NM_001075734.1 | Carbonyl reductase 3 |
| CCDC23 | NM_001040575.1 | Coiled-coil domain containing 23 |
| CCDC48 | NM_001146692.1 | Coiled-coil domain containing 48 |
| CCDC58 | NM_001083389.1 | Coiled-coil domain containing 58 |
| CCDC68 | XM_002697773.1 | Coiled-coil domain containing 68 |
| CCDC90A | NM_001102309.1 | Coiled-coil domain containing 90A |
| CCL2 | NM_174006.2 | Chemokine (C-C motif) ligand 2 |
| CCL3 | NM_174511.2 | Chemokine (C-C motif) ligand 3 |
| CCL8 | XM_001255312.4 | C-C motif chemokine 8-like |
| CCR4L | NM_001082454.1 | CCR4 carbon catabolite repression 4-like (<i>S. Cerevisiae</i>) |
| CD14 | NM_174008.1 | CD14 molecule |
| CD163L1 | ENSBTAT00000052415 | Antigen WC1.1 precursor |
| CD180 | NM_001076168.1 | CD180 molecule |
| CD1D | NM_001205381.1 | CD1D antigen, d polypeptide |
| CD1E | NM_001034394.1 | CD1e molecule |
| CD200R1L | XM_002684750.4 | CD200 receptor 1-like |
| CD276 | XM_864408.5 | CD276 molecule |
| CD300LG | XM_867184.5 | CD300 molecule-like family member g |

| | | |
|----------|--------------------|---|
| CD36 | NM_174010.2 | CD36 molecule (thrombospondin receptor) |
| CD44 | NM_174013.3 | CD44 molecule (Indian blood group) |
| CD59 | NM_001037446.1 | CD59 molecule, complement regulatory protein |
| CD74 | NM_001034735.1 | CD74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain |
| CD86 | NM_001038017.1 | CD86 molecule |
| CDC42EP3 | ENSBTAT00000032505 | Cdc42 effector protein 3 |
| CDC7 | NM_001037468.1 | Cell division cycle 7 homolog (S. Cerevisiae) |
| CDH13 | NM_001035277.1 | Cadherin 13, H-cadherin (heart) |
| CDK14 | NM_001206776.2 | Cyclin-dependent kinase 14 |
| CDK7 | NM_001075715.1 | Cyclin-dependent kinase 7 |
| CDKN2B | NM_001075894.1 | Cyclin-dependent kinase inhibitor 2B (p15, inhibits CDK4) |
| CEBPA | ENSBTAT00000006571 | Cebpa |
| CELA3B | NM_001166518.1 | Chymotrypsin-like elastase family, member 3B |
| CENPH | NM_001034236.1 | Centromere protein H |
| CEP170 | NM_001035377.2 | Centrosomal protein 170kda |
| CEP19 | NM_001099129.1 | Centrosomal protein 19kda |
| CEP78 | XM_002689659.2 | Centrosomal protein 78kda |
| CFTR | NM_174018.2 | Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (ATP-binding cassette sub-family C, member 7) |
| CHGA | NM_181005.2 | Chromogranin A (parathyroid secretory protein 1) |
| CHODL | NM_001101228.1 | Chondrolectin |
| CHRNA3 | NM_174719.2 | Cholinergic receptor, nicotinic, alpha 3 (neuronal) |
| CHST11 | NM_001192668.1 | Carbohydrate (chondroitin 4) sulfotransferase 11 |
| CHST12 | NM_001077913.1 | Carbohydrate (chondroitin 4) sulfotransferase 12 |
| CIDEA | NM_001083449.1 | Cell death-inducing DFFA-like effector a |
| CLEC12A | NM_001105345.1 | C-type lectin domain family 12, member A |
| CLEC2B | XM_002704424.2 | C-type lectin domain family 2, member B |
| CLEC4E | XM_002687823.1 | C-type lectin domain family 4, member E |
| CLN8 | ENSBTAT00000011319 | Protein CLN8 |
| CMIP | XM_001251051.3 | C-Maf inducing protein |
| CMYA5 | XM_003585416.1 | Cardiomyopathy associated 5 |
| CNOT8 | NM_001192774.1 | CCR4-NOT transcription complex, subunit 8 |
| CNP | NM_180993.1 | 2',3'-cyclic nucleotide 3' phosphodiesterase |
| CNTNAP2 | XM_002687137.1 | Contactin associated protein-like 2 |
| COBLL1 | XM_010802043.1 | Cordon-bleu WH2 repeat protein-like 1 |
| COL12A1 | NM_001206497.1 | Collagen, type XII, alpha 1 |
| COL21A1 | XM_003587662.1 | Collagen, type XXI, alpha 1 |
| COL8A2 | NM_001205665.1 | Collagen, type VIII, alpha 2 |
| COLEC10 | NM_001205713.1 | Collectin sub-family member 10 (C-type lectin) |
| COMP | NM_001166517.1 | Cartilage oligomeric matrix protein |
| COPZ2 | NM_001206922.1 | Coatomer protein complex, subunit zeta 2 |
| CORO1A | NM_174521.2 | Coronin, actin binding protein, 1A |
| CORO6 | NM_001102282.1 | Coronin 6 |
| COTL1 | NM_001046593.1 | Coactosin-like 1 (Dictyostelium) |
| CPA6 | ENSBTAT00000061366 | Carboxypeptidase A6 |
| CPT1C | XM_591445.3 | Carnitine palmitoyltransferase 1C |

| | | |
|---------|--------------------|--|
| CREB5 | XM_865288.4 | Camp responsive element binding protein 5 |
| CREM | NM_001034710.2 | Camp responsive element modulator |
| CRLF1 | XM_002688536.2 | Cytokine receptor-like factor 1 |
| CRTC1 | NM_001206319.1 | CREB regulated transcription coactivator 1 |
| CRTC3 | XM_591546.5 | CREB regulated transcription coactivator 3 |
| CRX | NM_173904.2 | Cone-rod homeobox |
| CSF1R | NM_001075403.2 | Colony stimulating factor 1 receptor |
| CSPG4 | NM_001192782.1 | Chondroitin sulfate proteoglycan 4 |
| CSPG5 | NM_001075229.1 | Chondroitin sulfate proteoglycan 5 (neuroglycan C) |
| CTSA | NM_001035326.1 | Cathepsin A |
| CTSK | NM_001034435.1 | Cathepsin K |
| CTSL2 | NM_174032.2 | Cathepsin L2 |
| CTSS | NM_001033615.1 | Cathepsin S |
| CX3CR1 | NM_001102558.1 | Chemokine (C-X3-C motif) receptor 1 |
| CXCL10 | NM_001046551.1 | Chemokine (C-X-C motif) ligand 10 |
| CXCL11 | NM_001113173.1 | Chemokine (C-X-C motif) ligand 11 |
| CXXC5 | NM_001038176.2 | CXXC finger protein 5 |
| CYB5R2 | XM_002693123.2 | Cytochrome b5 reductase 2 |
| CYHR1 | NM_001015532.1 | Cysteine/histidine-rich 1 |
| CYP27C1 | XM_002685217.2 | Cytochrome P450, family 27, subfamily C, polypeptide 1 |
| CYR61 | NM_001034340.1 | Cysteine-rich, angiogenic inducer, 61 |
| DBC1 | NM_001015669.1 | Deleted in bladder cancer 1 |
| DBN1 | NM_001045917.1 | Drebrin 1 |
| DDAH2 | NM_001034704.1 | Dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2 |
| DDC | NM_173907.2 | Dopa decarboxylase (aromatic L-amino acid decarboxylase) |
| DDR2 | NM_001083720.1 | Discoidin domain receptor tyrosine kinase 2 |
| DEFB1 | NM_175703.3 | Defensin, beta 1 |
| DEFB4A | NM_174775.1 | Defensin, beta 4A |
| DEFB5 | NM_001130761.1 | Defensin, beta 5 |
| DEFB7 | ENSBTAT00000062925 | Beta-defensin 7 |
| DENND4B | XM_584938.5 | DENN/MADD domain containing 4B |
| DENND5A | ENSBTAT0000008297 | DENN/MADD domain containing 5A |
| DIP2B | NM_001192309.1 | DIP2 disco-interacting protein 2 homolog B (Drosophila) |
| DIRAS3 | NM_001034215.1 | DIRAS family, GTP-binding RAS-like 3 |
| DLK2 | NM_001083494.1 | Delta-like 2 homolog (Drosophila) |
| DMKN | NM_001082463.1 | Dermokine |
| DOCK8 | NM_001191532.1 | Dedicator of cytokinesis 8 |
| DOK5 | NM_001075939.1 | Docking protein 5 |
| DPEP1 | NM_001034472.1 | Dipeptidase 1 (renal) |
| DPYSL3 | NM_001101068.1 | Dihydropyrimidinase-like 3 |
| DRAP1 | NM_001076214.1 | DR1-associated protein 1 (negative cofactor 2 alpha) |
| DTX4 | XM_002693821.2 | Deltex homolog 4 (Drosophila) |
| DUSP23 | NM_001082609.1 | Dual specificity phosphatase 23 |
| DUSP4 | NM_001206953.1 | Dual specificity phosphatase 4 |
| DVL3 | XM_002684877.2 | Dishevelled, dsh homolog 3 (Drosophila) |
| EDC3 | NM_001031758.1 | Enhancer of mrna decapping 3 homolog (S. Cerevisiae) |

| | | |
|---------|--------------------|--|
| EEF1A2 | NM_001037464.1 | Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 2 |
| EFNA4 | NM_001101249.1 | Ephrin-A4 |
| EHBP1 | XM_002691381.2 | EH domain binding protein 1 |
| EID2 | NM_001078049.1 | EP300 interacting inhibitor of differentiation 2 |
| ELF3 | NM_001098909.2 | E74-like factor 3 (ets domain transcription factor, epithelial-specific) |
| ELL2 | NM_001191146.1 | Elongation factor, RNA polymerase II, 2 |
| ELOVL2 | NM_001083517.1 | ELOVL fatty acid elongase 2 |
| ELTD1 | NM_001076908.1 | EGF, latrophilin and seven transmembrane domain containing 1 |
| EMR1 | XM_003582392.1 | EGF-like module-containing mucin-like hormone receptor-like 1-like |
| EMR3 | XR_083707.2 | EGF-like module-containing mucin-like hormone receptor-like 3-like |
| ENHO | NM_001163653.1 | Energy homeostasis associated |
| ENO2 | NM_001101125.1 | Enolase 2 (gamma, neuronal) |
| EPB41L1 | NM_001206223.1 | Erythrocyte membrane protein band 4.1-like 1 |
| EPHA2 | NM_001205731.1 | EPH receptor A2 |
| EPHA3 | NM_001206113.1 | EPH receptor A3 |
| EPHA7 | NM_001192726.1 | EPH receptor A7 |
| EPHB4 | NM_001206268.1 | EPH receptor B4 |
| EPS8L3 | NM_001205289.2 | EPS8-like 3 |
| ESF1 | NM_001192772.1 | ESF1, nucleolar pre-rRNA processing protein, homolog (S. Cerevisiae) |
| ETS2 | NM_001080214.1 | V-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 2 (avian) |
| EVI2B | NM_001099166.1 | Ecotropic viral integration site 2B |
| EXOC3L1 | NM_001075882.1 | Exocyst complex component 3-like 1 |
| EXTL2 | NM_001076224.1 | Exostoses (multiple)-like 2 |
| F2RL2 | NM_001038533.2 | Coagulation factor II (thrombin) receptor-like 2 |
| FADS2 | NM_001083444.1 | Fatty acid desaturase 2 |
| FADS3 | NM_001083691.1 | Fatty acid desaturase 3 |
| FAIM | NM_001079626.1 | Fas apoptotic inhibitory molecule |
| FAIM2 | NM_001075418.1 | Fas apoptotic inhibitory molecule 2 |
| FAM167A | NM_001076494.2 | Family with sequence similarity 167, member A |
| FAM167B | NM_001101268.1 | Family with sequence similarity 167, member B |
| FAM178A | NM_001102259.1 | Family with sequence similarity 178, member A |
| FAM19A5 | NM_001077000.1 | Family with sequence similarity 19 (chemokine (C-C motif)-like), member A5 |
| FAM20C | XM_002698175.2 | Family with sequence similarity 20, member C |
| FAM213A | NM_001034599.1 | Chromosome 28 open reading frame, human c10orf58 |
| FAM46B | NM_001045950.1 | Family with sequence similarity 46, member B |
| FAM65A | ENSBTAT00000011667 | Family with sequence similarity 65, member A |
| FAM65C | XM_002692501.2 | Family with sequence similarity 65, member C |
| FAM78A | ENSBTAT00000005969 | Protein FAM78A |
| FAM78B | NM_001206587.1 | Family with sequence similarity 78, member B |
| FANCC | NM_174316.2 | Fanconi anemia, complementation group C |
| FAR2 | NM_001076022.1 | Fatty acyl coa reductase 2 |
| FBLN2 | XM_002697131.1 | Fibulin 2 |
| FBXL7 | XM_002696446.2 | F-box and leucine-rich repeat protein 7 |
| FBXO10 | NM_001144076.1 | F-box protein 10 |
| FCHO1 | XM_002688540.1 | FCH domain only 1 |
| FERMT3 | ENSBTAT00000022017 | Fermitin family member 3 |

| | | |
|---------|--------------------|---|
| FEZ2 | XM_001251831.1 | Fasciculation and elongation protein zeta 2 (zygin II) |
| FGF12 | ENSBTAT00000016471 | Fibroblast growth factor 12 |
| FGF13 | NM_001098892.1 | Fibroblast growth factor 13 |
| FILIP1 | NM_001192362.1 | Filamin A interacting protein 1 |
| FKBP10 | NM_001046403.1 | FK506 binding protein 10, 65 kda |
| FKBP1A | NM_001035456.1 | FK506 binding protein 1A, 12kda |
| FKBP3 | NM_001038112.3 | FK506 binding protein 3, 25kda |
| FKBP7 | NM_001100330.1 | FK506 binding protein 7 |
| FLNA | NM_001206514.1 | Filamin A, alpha |
| FLT3LG | NM_181030.2 | Fms-related tyrosine kinase 3 ligand |
| Flvcr2 | ENSBTAT00000015901 | Flvcr2 |
| FMNL3 | NM_001191506.1 | Formin-like 3 |
| FMO4 | NM_001192230.1 | Flavin containing monooxygenase 4 |
| FMOD | NM_174058.2 | Fibromodulin |
| FOXN2 | XM_002691316.1 | Forkhead box N2 |
| FOXN3 | NM_001206687.1 | Forkhead box N3 |
| FRMD3 | NM_001046348.1 | FERM domain containing 3 |
| FRZB | NM_174059.2 | Frizzled-related protein |
| FSD1 | NM_001081518.1 | Fibronectin type III and SPRY domain containing 1 |
| FSTL1 | XM_001254148.3 | Follistatin-like 1 |
| FZD2 | XM_003583623.1 | Frizzled-2-like |
| FZD9 | XM_599625.3 | Frizzled family receptor 9 |
| GAL3ST3 | NM_001075840.1 | Galactose-3-O-sulfotransferase 3 |
| GALNTL4 | NM_001076316.1 | UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase-like 4 |
| GAPT | NM_001099397.1 | GRB2-binding adaptor protein, transmembrane |
| GAS7 | NM_001102280.1 | Growth arrest-specific 7 |
| GATA1 | NM_001206240.1 | GATA binding protein 1 (globin transcription factor 1) |
| GATA3 | NM_001076804.1 | GATA binding protein 3 |
| GBP2 | XM_002686265.1 | Guanylate binding protein 2, interferon-inducible |
| GCNT1 | NM_177510.2 | Glucosaminyl (N-acetyl) transferase 1, core 2 |
| GDA | NM_001192620.1 | Guanine deaminase |
| GDF1 | XM_002688525.1 | Growth differentiation factor 1 |
| GDF11 | XM_002687421.2 | Growth differentiation factor 11 |
| GDF7 | NM_001206101.1 | Growth differentiation factor 7 |
| GFRA2 | NM_001015595.2 | GDNF family receptor alpha 2 |
| GFRA4 | XM_870813.4 | GDNF family receptor alpha 4 |
| GGCT | NM_001037610.1 | Gamma-glutamylcyclotransferase |
| GGCX | NM_174066.2 | Gamma-glutamyl carboxylase |
| GIMAP1 | NM_001083677.1 | Gtpase, IMAP family member 1 |
| GIMAP7 | NM_001046308.1 | Gtpase, IMAP family member 7 |
| GLIS2 | NM_001205948.1 | GLIS family zinc finger 2 |
| GLRX | NM_001037604.2 | Glutaredoxin (thioltransferase) |
| GLS | NM_001077964.1 | Glutaminase |
| GLT8D2 | NM_001046266.1 | Glycosyltransferase 8 domain containing 2 |
| GLTSCR1 | XM_003587299.1 | Glioma tumor suppressor candidate region gene 1 |
| GNA15 | NM_001192714.1 | Guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha 15 (Gq class) |

| | | |
|---------|--------------------|---|
| GNAI1 | NM_174324.2 | Guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha inhibiting activity polypeptide 1 |
| GNB4 | NM_001099033.1 | Guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 4 |
| GNB5 | NM_001099070.1 | Guanine nucleotide binding protein (G protein), beta 5 |
| GPBAR1 | NM_175049.2 | G protein-coupled bile acid receptor 1 |
| GPC1 | NM_001046236.1 | Glypican 1 |
| GPD2 | NM_001100296.1 | Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 2 (mitochondrial) |
| GPIHBP1 | XM_002692563.1 | Glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1 |
| GPR124 | ENSBTAT00000011608 | G protein-coupled receptor 124 |
| GPR161 | ENSBTAT00000000809 | G protein-coupled receptor 161 |
| GPR176 | NM_001192616.1 | G protein-coupled receptor 176 |
| GPR27 | XM_003587626.1 | G protein-coupled receptor 27 |
| GPR34 | ENSBTAT00000026831 | G protein-coupled receptor 34 |
| GPR37 | NM_001075969.1 | G protein-coupled receptor 37 (endothelin receptor type B-like) |
| GPR37L1 | NM_001075899.1 | G protein-coupled receptor 37 like 1 |
| GPRASP1 | XM_002699792.4 | G protein-coupled receptor associated sorting protein 1 |
| GPRC5A | NM_001034515.1 | G protein-coupled receptor, family C, group 5, member A |
| GPSM1 | XM_001787979.2 | G-protein signaling modulator 1 |
| GPSM3 | XM_002697372.2 | G-protein signaling modulator 3 |
| GPX4 | ENSBTAT00000063044 | Glutathione peroxidase 4 |
| GRB10 | NM_001192586.1 | Growth factor receptor-bound protein 10 |
| GREM1 | NM_001082450.1 | Gremlin 1 |
| GRIA4 | ENSBTAT00000063398 | Glutamate receptor 4 precursor |
| GRIK5 | NM_001046424.1 | Glutamate receptor, ionotropic, kainate 5 |
| GRIN2D | XM_002695195.1 | Glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2D |
| GRM8 | NM_001206117.1 | Glutamate receptor, metabotropic 8 |
| GRN | NM_001077014.1 | Granulin |
| GSC | NM_001192386.1 | Goosecoid homeobox |
| GSTA4 | NM_001015651.1 | Glutathione S-transferase alpha 4 |
| GUCY2C | NM_174547.2 | Guanylate cyclase 2C (heat stable enterotoxin receptor) |
| GULP1 | NM_001079509.1 | GULP, engulfment adaptor PTB domain containing 1 |
| GUSB | NM_001083436.1 | Glucuronidase, beta |
| GXYLT2 | XM_583887.4 | Glucoside xylosyltransferase 2 |
| HECTD2 | NM_001206772.1 | HECT domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2 |
| HEG1 | XM_002684814.1 | HEG homolog 1 (zebrafish) |
| HES5 | NM_001105467.1 | Hairy and enhancer of split 5 (Drosophila) |
| HHEX | NM_001105424.1 | Hematopoietically expressed homeobox |
| HHIP | NM_001099114.1 | Hedgehog interacting protein |
| HIBCH | NM_001046413.1 | 3-hydroxyisobutyryl-coa hydrolase |
| HMGXB4 | NM_001101856.1 | HMG box domain containing 4 |
| HMHA1 | ENSBTAT00000027682 | Histocompatibility (minor) HA-1 |
| HOXA2 | NM_001075854.1 | Homeobox A2 |
| HOXC6 | XM_864696.5 | Homeobox C6 |
| HOXC9 | XM_002687231.2 | Homeobox C9 |
| HOXD11 | NM_001206324.1 | Homeobox D11 |
| HRC | NM_001102313.1 | Histidine rich calcium binding protein |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| HRH1 | ENSBTAT00000001896 | Histamine H1 receptor |
| HRH4 | XM_001251983.2 | Histamine receptor H4 |
| HS1BP3 | XM_002691514.1 | HCLS1 binding protein 3 |
| HS3ST3A1 | NM_001192548.1 | Heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 3A1 |
| HS3ST3B1 | NM_001193139.1 | Heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 3B1 |
| HSD3B7 | NM_001034696.1 | Hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 7 |
| HTRA1 | NM_001244233.1 | Htra serine peptidase 1 |
| HTRA4 | XM_002698718.1 | Htra serine peptidase 4 |
| HVCN1 | NM_001206253.1 | Hydrogen voltage-gated channel 1 |
| HYAL1 | ENSBTAT00000064853 | Hyaluronoglucosaminidase 1 |
| ICAM1 | NM_174348.2 | Intercellular adhesion molecule 1 |
| IDO2 | XR_084098.2 | Indoleamine 2,3-dioxygenase 2-like |
| IER3 | NM_001075202.2 | Immediate early response 3 |
| IER5L | NM_001206835.1 | Immediate early response 5-like |
| IFIT3 | NM_001075414.1 | Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3 |
| IFITM1 | NM_001078142.1 | Interferon induced transmembrane protein 1 (9-27) |
| IFITM10 | XM_002699452.2 | Interferon induced transmembrane protein 10 |
| IFITM2 | NM_001078054.1 | Interferon induced transmembrane protein 2 (1-8D) |
| IFNAR2 | NM_174553.2 | Interferon (alpha, beta and omega) receptor 2 |
| IGFBP2 | NM_174555.1 | Insulin-like growth factor binding protein 2, 36kda |
| IGFBP6 | NM_001040495.1 | Insulin-like growth factor binding protein 6 |
| IGSF1 | NM_001105048.1 | Immunoglobulin superfamily, member 1 |
| IGSF11 | NM_001076921.1 | Immunoglobulin superfamily, member 11 |
| IL11RA | NM_001034339.1 | Interleukin 11 receptor, alpha |
| IL1RAPL1 | XM_615546.4 | Interleukin 1 receptor accessory protein-like 1 |
| IL1RN | NM_174357.2 | Interleukin 1 receptor antagonist |
| INHBA | NM_174363.2 | Inhibin, beta A |
| INPP5F | XM_003587902.1 | Inositol polyphosphate-5-phosphatase F |
| IRF8 | NM_001083769.1 | Interferon regulatory factor 8 |
| IRS1 | XM_002685642.1 | Insulin receptor substrate 1 |
| ISG12(B) | NM_001076457.2 | TLH29 protein precursor-like |
| ISM1 | NM_001163935.1 | Isthmin 1 homolog (zebrafish) |
| ISOC1 | NM_001101213.1 | Isochorismatase domain containing 1 |
| ITGA6 | NM_001109981.1 | Integrin, alpha 6 |
| ITGA8 | XM_002701040.2 | Integrin, alpha 8 |
| ITGAX | XM_002698101.2 | Integrin, alpha X (complement component 3 receptor 4 subunit) |
| JAZF1 | ENSBTAT00000025319 | Juxtaposed with another zinc finger protein 1 |
| JMY | XM_606924.5 | Junction mediating and regulatory protein, p53 cofactor |
| JPH1 | NM_001192887.1 | Junctophilin 1 |
| KANK3 | NM_001113763.2 | KN motif and ankyrin repeat domains 3 |
| KCNA3 | XM_002686146.1 | Potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 3 |
| KCNB2 | ENSBTAT00000053147 | Potassium voltage-gated channel subfamily B member 2 |
| KCNE1L | NM_001077875.1 | KCNE1-like |
| KCNE4 | NM_001081543.1 | Potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 4 |
| KCNJ12 | NM_001024690.2 | Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 12 |

| | | |
|--------------|--------------------|--|
| KCTD15 | NM_001075568.1 | Potassium channel tetramerisation domain containing 15 |
| KCTD8 | NM_001205725.1 | Potassium channel tetramerisation domain containing 8 |
| KDELC1 | NM_001075685.1 | KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) containing 1 |
| KIAA0754 | NM_001206988.1 | KIAA0754 ortholog |
| KIAA0930 | XM_002687978.1 | KIAA0930 ortholog |
| KIAA1310 | NM_001099172.1 | KIAA1310 ortholog |
| KIAA1324L | NM_001046238.2 | KIAA1324-like ortholog |
| KIAA1715 | NM_001075989.1 | Kiaa1715 |
| KIF26A | ENSBTAT00000029205 | Kinesin family member 26A |
| KIF5A | NM_001205694.1 | Kinesin family member 5A |
| KLF10 | NM_001168462.1 | Kruppel-like factor 10 |
| KLF2 | XM_002688582.2 | Kruppel-like factor 2 (lung) |
| KLRB1 | NM_001206636.1 | Killer cell lectin-like receptor subfamily B, member 1 |
| KRTCAP3 | NM_001035062.1 | Keratinocyte associated protein 3 |
| LAMA4 | NM_001205965.1 | Laminin, alpha 4 |
| LAPTM4B | XM_010812166.1 | Lysosomal protein transmembrane 4 beta |
| LAPTM5 | NM_001046118.1 | Lysosomal protein transmembrane 5 |
| LARP6 | ENSBTAT00000005109 | La-related protein 6 |
| LAT2 | NM_001075183.2 | Linker for activation of T cells family, member 2 |
| LATS2 | XM_584953.3 | LATS, large tumor suppressor, homolog 2 (Drosophila) |
| LCN10 | ENSBTAT00000021488 | Lipocalin 10 |
| Ldoc1 | ENSBTAT00000024088 | Ldoc1 |
| LEPRE1 | NM_001103291.1 | Leucine proline-enriched proteoglycan (leprecan) 1 |
| LEPREL1 | NM_001100345.1 | Lepreca-like 1 |
| LGALS4 | NM_001034768.1 | Lectin, galactoside-binding, soluble, 4 |
| LGI1 | NM_001046591.2 | Leucine-rich, glioma inactivated 1 |
| LGMIN | XM_003585053.1 | Legumain |
| LILRA4 | NM_001102357.1 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily A (with TM domain), member 4 |
| LILRB3 | XM_002695423.2 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 3 |
| LIMS1 | NM_001083495.1 | LIM and senescent cell antigen-like domains 1 |
| LMO3 | NM_001046337.1 | LIM domain only 3 (rhombotin-like 2) |
| LOC100137883 | ENSBTAT00000007127 | Loc100137883 |
| LOC100140410 | XM_002698229.1 | Uncharacterized LOC100140410 |
| LOC100295130 | XR_083970.1 | Lysosomal-associated transmembrane protein 4B-like |
| LOC100296151 | XM_002693938.1 | Uncharacterized LOC100296151 |
| LOC100296849 | XR_083642.1 | Protein BEX3-like |
| LOC100297645 | XM_002704844.1 | Uncharacterized LOC100297645 |
| LOC100297676 | XM_002687838.2 | C-type lectin domain family 2 member G-like |
| LOC100297905 | XM_003584636.1 | Ninein-like protein-like |
| LOC100298353 | XR_084113.2 | Uncharacterized LOC100298353 |
| LOC100299445 | XM_002688994.2 | Erythrocyte membrane protein band 4.1 like 4B-like |
| LOC100300061 | XM_002699002.2 | Ankyrin repeat domain 26-like |
| LOC100301222 | XM_003585040.1 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 6-like |
| LOC100301250 | XR_814318.1 | Ras-related protein Rap-2c |
| LOC100335165 | XM_002705650.2 | Beta-defensin C7-like |

| | | |
|--------------|----------------|---|
| LOC100335345 | XM_002702348.1 | Carbonyl reductase [NADPH] 1-like |
| LOC100335364 | XM_002700610.1 | FERM domain-containing protein 6-like |
| LOC100335434 | XM_002699489.1 | Uncharacterized LOC100335434 |
| LOC100335479 | XM_002707704.2 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily A (with TM domain), member 6-like |
| LOC100335628 | XM_002706682.2 | Beta-defensin 3-like |
| LOC100335809 | XM_002685236.2 | Protease-like |
| LOC100335951 | XM_002706761.1 | Beta-defensin 4-like |
| LOC100335980 | XM_002684485.1 | Thymosin beta-4-like |
| LOC100336124 | XM_002702211.1 | Hcg1639864-like |
| LOC100336391 | XM_002700628.1 | Protease-like |
| LOC100336434 | XM_003587600.1 | Uncharacterized LOC100336434 |
| LOC100336547 | XM_003584785.1 | Wiskott-Aldrich syndrome protein-like |
| LOC100336560 | XM_002700095.1 | Wiskott-Aldrich syndrome protein-like |
| LOC100336568 | XM_002690128.1 | Laminin alpha 5-like |
| LOC100336656 | XM_002699379.1 | Fermitin family homolog 3-like |
| LOC100337052 | XM_002690105.1 | Laminin alpha 4-like |
| LOC100337100 | XM_002698477.1 | Leucine-rich glioma-inactivated protein 1-like |
| LOC100337102 | XM_002686632.2 | DDC protein-like |
| LOC100337179 | XM_002688905.1 | Thyroid hormone receptor interactor 10-like |
| LOC100337296 | XM_003587341.3 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 5 |
| LOC100337371 | XM_003586889.1 | Carboxypeptidase A6-like |
| LOC100337438 | XM_002686187.1 | Epidermal growth factor receptor pathway substrate 8-like protein 3-like |
| LOC100847108 | XR_138612.1 | Uncharacterized LOC100847108 |
| LOC100847109 | XM_003584037.1 | Uncharacterized LOC100847109 |
| LOC100847123 | XM_003584132.1 | Uncharacterized LOC100847123 |
| LOC100847155 | XM_003583976.1 | Uncharacterized LOC100847155 |
| LOC100847277 | XR_138999.1 | Uncharacterized LOC100847277 |
| LOC100847295 | XM_003587647.1 | Uncharacterized LOC100847295 |
| LOC100847326 | XM_003583827.1 | Uncharacterized LOC100847326 |
| LOC100847376 | XM_003585786.1 | Uncharacterized LOC100847376 |
| LOC100847414 | XR_139271.1 | Uncharacterized LOC100847414 |
| LOC100847452 | XR_138694.1 | Uncharacterized LOC100847452 |
| LOC100847523 | XR_139694.1 | Uncharacterized LOC100847523 |
| LOC100847526 | XM_003582163.1 | Gtpase IMAP family member 8-like |
| LOC100847531 | XM_003585620.1 | Glutamate receptor, ionotropic kainate 1-like |
| LOC100847537 | XM_003586564.1 | Uncharacterized LOC100847537 |
| LOC100847652 | XR_139448.1 | Uncharacterized LOC100847652 |
| LOC100847670 | XM_003586061.1 | Uncharacterized LOC100847670 |
| LOC100847674 | XR_139491.1 | Uncharacterized LOC100847674 |
| LOC100847678 | XM_003588180.1 | Uncharacterized LOC100847678 |
| LOC100847697 | XR_139260.1 | Uncharacterized LOC100847697 |
| LOC100847757 | XM_003585957.1 | Platelet glycoprotein 4-like |
| LOC100847914 | XR_139541.1 | Uncharacterized LOC100847914 |
| LOC100847932 | XM_003587838.1 | Uncharacterized LOC100847932 |
| LOC100847951 | XM_003587726.1 | Uncharacterized LOC100847951 |

| | | |
|--------------|----------------|---|
| LOC100848143 | XM_003585601.1 | Dedicator of cytokinesis protein 11-like |
| LOC100848246 | XR_139015.1 | Uncharacterized LOC100848246 |
| LOC100848317 | XM_003583915.1 | Uncharacterized LOC100848317 |
| LOC100848366 | XR_139523.1 | Uncharacterized LOC100848366 |
| LOC100848375 | XR_139401.1 | Uncharacterized LOC100848375 |
| LOC100848404 | XM_003584130.1 | Uncharacterized LOC100848404 |
| LOC100848448 | XR_139043.1 | Uncharacterized LOC100848448 |
| LOC100848452 | XM_003584767.1 | Uncharacterized LOC100848452 |
| LOC100848461 | XM_003585167.1 | Laminin subunit alpha-2-like |
| LOC100848466 | XR_139490.1 | Progesterone receptor-like |
| LOC100848531 | XM_003587050.1 | Uncharacterized LOC100848531 |
| LOC100848548 | XR_138933.1 | Uncharacterized LOC100848548 |
| LOC100848684 | XR_139212.1 | Uncharacterized LOC100848684 |
| LOC100848719 | XM_003587519.1 | Uncharacterized LOC100848719 |
| LOC100848735 | XM_003584149.1 | Uncharacterized LOC100848735 |
| LOC100848864 | XM_003581709.1 | Uncharacterized LOC100848864 |
| LOC100848875 | XM_003583934.1 | N-acetyllactosaminide beta-1,6-N-acetylglucosaminyl-transferase, isoform A-like |
| LOC100848952 | XM_003585990.1 | Uncharacterized LOC100848952 |
| LOC100848985 | XR_139270.1 | Uncharacterized LOC100848985 |
| LOC100849041 | XM_003586465.1 | WNT1-inducible-signaling pathway protein 3-like |
| LOC100849046 | XM_003585825.1 | SLAM family member 9-like |
| LOC100849222 | XM_003585461.1 | Proto-oncogene vav-like |
| LOC100849324 | XM_003581835.1 | Rho gtpase-activating protein 15-like |
| LOC100849341 | XM_003585549.1 | BTB/POZ domain-containing protein KCTD17-like |
| LOC100849568 | XR_139156.1 | Uncharacterized LOC100849568 |
| LOC100849709 | XM_003584725.1 | Ovalbumin-like |
| LOC100849790 | XM_003581823.1 | Secretory phospholipase A2 receptor-like |
| LOC100849837 | XM_003582451.1 | PRELI domain-containing protein 2-like |
| LOC100849866 | XM_003581722.1 | Uncharacterized LOC100849866 |
| LOC100850031 | XM_003582023.1 | Uncharacterized LOC100850031 |
| LOC100850196 | XR_139027.1 | Uncharacterized LOC100850196 |
| LOC100850381 | XM_003585209.1 | Neurotrophin-4-like |
| LOC100851010 | XM_003584111.1 | Phosphatidylinositide phosphatase SAC2-like |
| LOC100851082 | XM_003581763.1 | Serine/threonine-protein phosphatase 2A regulatory subunit B'' subunit alpha-like |
| LOC100851088 | XM_003582271.1 | Antigen WC1.1-like |
| LOC100851475 | XM_003585524.1 | Sushi repeat-containing protein SRPX2-like |
| LOC100851496 | XM_003585292.1 | Uncharacterized LOC100851496 |
| LOC100851524 | XM_003584864.1 | Netrin receptor UNC5B-like |
| LOC100851529 | XM_003585525.1 | Receptor-transporting protein 4-like |
| LOC100851579 | XM_003585038.1 | Leucine-rich glioma-inactivated protein 1-like |
| LOC100851624 | XM_003582474.1 | Uncharacterized LOC100851624 |
| LOC100851799 | XM_003581794.1 | Solute carrier family 40 member 1-like |
| LOC100852077 | XM_003585042.1 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 5-like |
| LOC101903126 | XM_010812595.1 | Interferon-induced very large gtpase 1-like |
| LOC104968444 | XR_808414.1 | Tumor necrosis factor receptor superfamily member 10B-like |

| | | |
|-----------|--------------------|--|
| LOC404107 | XM_003587940.1 | Beta-defensin C7-like |
| LOC407171 | NM_001001138.1 | Fc gamma 2 receptor |
| LOC504548 | XM_002697377.1 | Ubiquitin D-like |
| LOC504927 | XM_581122.4 | Coiled-coil domain containing 3-like |
| LOC504986 | XM_003587798.1 | Polycystin-1-like |
| LOC506672 | XM_003585790.1 | Brain-specific angiogenesis inhibitor 2-like Feline leukemia virus subgroup C cellular receptor family, member 2-like |
| LOC509034 | XM_585913.5 | |
| LOC509283 | XM_002696144.3 | E3 ubiquitin-protein ligase RNF213 |
| LOC509972 | XM_002687834.1 | C-type lectin domain family 2 member D11-like |
| LOC510083 | XM_003587495.1 | Dedicator of cytokinesis protein 2-like |
| LOC510700 | XM_001788561.3 | Solute carrier family 25 member 40-like |
| LOC510723 | XR_083091.1 | Probable phospholipid-transporting atpase VA-like |
| LOC511498 | NM_001075520.1 | Cytochrome P450, family 2, subfamily c |
| LOC512286 | XM_003581921.1 | Antigen-presenting glycoprotein CD1d-like |
| LOC512825 | XM_590407.4 | MHC class I-related protein-like |
| LOC512863 | XM_003583464.1 | Sialic acid-binding Ig-like lectin 14-like |
| LOC514296 | XM_003587635.1 | 5'-nucleotidase domain-containing protein 2-like |
| LOC519309 | XM_003587249.1 | Zinc finger protein 790-like |
| LOC522479 | XM_002683806.1 | Ovalbumin-like |
| LOC522910 | ENSBTAT00000028129 | Loc522910 Ras-associated and pleckstrin homology domains-containing protein 1-like |
| LOC523153 | XM_003581853.1 | |
| LOC524129 | XM_002690060.1 | Lysosomal protein transmembrane 4 beta-like |
| LOC527068 | NM_001035367.1 | Aldo-keto reductase family 1 member C3 -like |
| LOC528150 | XM_001788671.2 | Man9-mannosidase-like |
| LOC529196 | NM_001075921.1 | C-C chemokine receptor type 1-like |
| LOC529934 | XM_002683850.1 | Piezo-type mechanosensitive ion channel component 2-like |
| LOC534200 | XM_001789815.3 | Aldehyde dehydrogenase family 1, subfamily A3-like |
| LOC534360 | XM_614108.6 | Poliovirus receptor-related 3-like |
| LOC535166 | XM_003586897.1 | Extracellular sulfatase Sulf-1-like |
| LOC535643 | XM_003582019.1 | Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 2-like |
| LOC537655 | XM_010822099.1 | Dystrophin |
| LOC540011 | XM_590893.5 | Spindle and kinetochore-associated protein 2 pseudogene |
| LOC613677 | XM_002685367.1 | Mcg124345-like |
| LOC614138 | ENSBTAT00000057343 | Loc614138 |
| LOC614141 | XM_002696192.1 | Cd300c molecule-like |
| LOC615291 | XR_083543.1 | Ferritin light chain-like |
| LOC615936 | XM_010819612.1 | Autism susceptibility gene 2 protein |
| LOC616690 | XM_002707860.2 | Acp1 protein-like |
| LOC618071 | NM_001206718.1 | Uncharacterized LOC618071 |
| LOC618311 | XM_003583565.1 | Zinc finger protein 594-like |
| LOC618391 | XM_002695216.2 | Osjnba0006b20.10-like |
| LOC618541 | XM_883359.4 | Uncharacterized LOC618541 |
| LOC618591 | NM_001101276.1 | Killer cell lectin-like receptor-like |
| LOC751574 | NM_001076528.1 | Secreted and transmembrane protein 1B |
| LOC751804 | XR_084195.2 | WC1 isolate DV100 |

| | | |
|-----------|--------------------|--|
| LOC781254 | XR_139520.1 | 26S protease regulatory subunit 10B-like |
| LOC781667 | XM_003581923.1 | Kin of IRRE like |
| LOC781807 | XR_082924.1 | Axin interactor, dorsalization-associated protein-like |
| LOC782134 | XM_003582629.1 | Myc target protein 1-like |
| LOC782367 | ENSBTAT00000033956 | Cd1d molecule-like |
| LOC782369 | XM_002688279.1 | Uncharacterized LOC782369 |
| LOC782418 | XR_082816.1 | Motile sperm domain-containing protein 2-like Potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 3 |
| LOC782449 | XM_001250120.3 | |
| LOC782470 | XR_083734.2 | Tropomyosin alpha-4 chain-like |
| LOC782642 | XM_001251278.2 | Mal, T-cell differentiation protein-like |
| LOC782921 | XR_819728.1 | Ferritin light chain Leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 3-like |
| LOC783134 | XM_002695426.2 | |
| LOC783195 | XM_002690653.1 | Ribonuclease 4-like |
| LOC783920 | XR_082927.2 | Interferon-induced very large gtpase 1-like |
| LOC784007 | XM_001252441.4 | Uncharacterized LOC784007 |
| LOC784129 | XR_083452.2 | Coiled-coil domain-containing protein 3-like |
| LOC784519 | XM_001789758.2 | Deoxyribonuclease gamma-like |
| LOC784535 | ENSBTAT00000019687 | Loc784535 |
| LOC784541 | XM_003586410.1 | Uncharacterized LOC784541 |
| LOC784623 | XM_002707864.1 | Uncharacterized LOC784623 |
| LOC784703 | XM_001251479.3 | Ras-related protein Rab-33A |
| LOC785088 | XM_001250370.3 | Hormone-sensitive lipase-like |
| LOC785323 | XM_001253389.2 | Ninein-like protein-like |
| LOC785745 | XM_002696647.1 | Putative thymosin beta-4-like protein 2-like |
| LOC786215 | XM_001253968.1 | Uncharacterized LOC786215 |
| LOC786332 | XM_003588118.1 | Tomoregulin-1-like |
| LOC786948 | XM_003587795.1 | Tryptase-2-like |
| LOC787549 | XR_083239.2 | Coiled-coil domain-containing protein 3-like |
| LOC787668 | XM_010802704.1 | Olfactory receptor 1052-like |
| LOC787750 | XM_003585569.1 | Ferritin light chain-like |
| LOC787905 | ENSBTAT00000037519 | Loc787905 |
| LOC788643 | XR_083450.2 | Platelet-derived growth factor subunit B-like |
| LOC789148 | XM_003582399.1 | Rap1b, member of RAS oncogene family-like |
| LOC789368 | XM_001256143.1 | Sodium-coupled neutral amino acid transporter 5-like |
| LOC789687 | ENSBTAT00000063180 | Uncharacterized LOC789687 |
| LOC789929 | XM_010818652.1 | Olfactory receptor 5D18-like |
| LOC790101 | XR_138959.1 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 6-like |
| LOC790255 | XM_003585464.1 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 6-like |
| LOC790270 | XM_001256788.1 | UDP-N-acetylglucosamine transporter-like |
| LOC790388 | XM_001256871.3 | Probable G-protein coupled receptor 37-like |
| LOX | NM_173932.3 | Lysyl oxidase |
| LPAR1 | NM_174047.2 | Lysophosphatidic acid receptor 1 |
| LRAT | ENSBTAT00000022813 | Lecithin retinol acyltransferase Leucine-rich repeats and calponin homology (CH) domain containing 2 |
| LRCH2 | XM_618181.3 | |
| LRP6 | XM_002687783.2 | Low density lipoprotein receptor-related protein 6 |

| | | |
|-----------|---------------------|---|
| LRR25 | NM_174688.3 | Leucine rich repeat containing 25 |
| LRR8B | XM_595756.5 | Leucine rich repeat containing 8 family, member B |
| LSM11 | ENSBTAT00000013683 | LSM11, U7 small nuclear RNA associated |
| LSP1 | NM_001075374.1 | Lymphocyte-specific protein 1 |
| LY9 | NM_001075918.1 | Lymphocyte antigen 9 |
| LYZ2 | NM_180999.1 | Lysozyme C-2 |
| MACC1 | ENSBTAT00000004882 | Metastasis associated in colon cancer 1 |
| MAL | NM_001075428.1 | Mal, T-cell differentiation protein |
| MAMLD1 | XM_002699644.1 | Mastermind-like domain containing 1 |
| MAN1A1 | NM_001205972.1 | Mannosidase, alpha, class 1A, member 1 |
| MAP2K1 | NM_001130752.1 | Mitogen-activated protein kinase kinase 1 |
| MAP2K6 | NM_001034045.1 | Mitogen-activated protein kinase kinase 6 |
| MAP3K6 | NM_001193236.1 | Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 6 |
| MAP4K3 | NM_001191162.1 | Mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase 3 |
| MAP7D3 | ENSBTAT000000048938 | MAP7 domain containing 3 |
| MAPRE2 | NM_001034374.2 | Microtubule-associated protein, RP/EB family, member 2 |
| MARCKS | NM_001076276.1 | Myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate |
| MARK3 | XM_002696784.2 | MAP/microtubule affinity-regulating kinase 3 |
| MCF2L | XM_003586739.1 | MCF.2 cell line derived transforming sequence-like |
| MDGA2 | XM_617674.6 | MAM domain containing glycosylphosphatidylinositol anchor 2 |
| ME1 | ENSBTAT00000007465 | NADP-dependent malic enzyme |
| MECOM | XM_003581743.1 | MDS1 and EVI1 complex locus |
| MEF2BNB | NM_001145790.1 | MEF2B neighbor |
| MEMO1 | NM_001076395.1 | Mediator of cell motility 1 |
| MEP1B | NM_001144098.1 | Meprin A, beta |
| MET | NM_001012999.2 | Met proto-oncogene (hepatocyte growth factor receptor) |
| MEX3B | XM_002696619.2 | Mex-3 homolog B (C. Elegans) |
| MFSD11 | NM_001075777.1 | Major facilitator superfamily domain containing 11 |
| MFSD12 | XM_605041.6 | Major facilitator superfamily domain containing 12 |
| MGAT5B | NM_001102337.1 | Mannosyl (alpha-1,6)-glycoprotein beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase, isozyme B |
| MGC134093 | ENSBTAT000000051932 | Uncharacterized protein LOC768011 |
| MGC139164 | NM_001101916.1 | Uncharacterized LOC509649 |
| MGC148762 | NM_001102069.1 | Uncharacterized LOC522763 |
| MIC1 | NM_001127317.1 | Major histocompatibility class I related protein |
| MIC2 | XM_001255620.3 | CD99 molecule |
| MIR199C | NR_031110.1 | Microrna mir-199c |
| MIR21 | ENSBTAT000000042276 | Microrna mir-21 |
| MIR2299 | NR_031036.1 | Microrna mir-2299 |
| MIR339 | NR_031204.1 | Microrna mir-339 |
| MIR370 | ENSBTAT000000042161 | Microrna mir-370 |
| MIR490 | ENSBTAT000000042344 | Microrna mir-490 |
| MLLT11 | NM_001076169.1 | Myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (trithorax homolog, Drosophila); translocated to, 11 |
| MPZ | NM_001079507.1 | Myelin protein zero |
| MRC1 | XM_003582925.1 | Mannose receptor, C type 1 |
| MRPL32 | NM_001038679.1 | Mitochondrial ribosomal protein L32 |

| | | |
|-----------|--------------------|---|
| MS4A1 | NM_001077854.1 | Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1 |
| MSN | NM_001046477.1 | Moesin |
| MSR1 | NM_001113240.1 | Macrophage scavenger receptor 1 |
| MSRB3 | XM_002687542.1 | Methionine sulfoxide reductase B3 |
| MSTN | NM_001001525.2 | Myostatin |
| MSX2 | NM_001079614.1 | Msh homeobox 2 |
| MTA3 | NM_001101964.1 | Metastasis associated 1 family, member 3 |
| MTHFR | NM_001011685.1 | Methylenetetrahydrofolate reductase (NAD(P)H) |
| MTMR9 | NM_001046256.1 | Myotubularin related protein 9-like |
| MTRR | NM_001030299.1 | 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase |
| MUC13 | XM_002702427.2 | Mucin 13, cell surface associated V-myc myelocytomatosis viral related oncogene, neuroblastoma derived (avian) |
| MYCN | XM_869019.4 | |
| MYL12A | NM_001015640.2 | Myosin, light chain 12A, regulatory, non-sarcomeric |
| MYL6B | NM_001075713.1 | Myosin, light chain 6B, alkali, smooth muscle and non-muscle |
| MYO19 | NM_001024501.2 | Myosin XIX |
| MYO1G | XM_594668.5 | Myosin IG |
| MYO9A | XM_593333.5 | Myosin IXA |
| MYOF | NM_001193212.1 | Myoferlin |
| NACAD | ENSBTAT00000010646 | NAC alpha domain containing |
| NANP | NM_001105377.1 | N-acetylneuraminic acid phosphatase |
| NAPSA | XM_001790617.2 | Napsin A aspartic peptidase |
| NBEA | XM_002691752.2 | Neurobeachin |
| NCK2 | NM_001099036.1 | NCK adaptor protein 2 |
| NCKAP1L | NM_001143876.1 | NCK-associated protein 1-like |
| NDN | NM_001014982.1 | Necdin homolog (mouse) |
| NEDD4 | XM_003582720.1 | Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4 |
| NES | NM_001206591.1 | Nestin |
| NEU1 | NM_001083642.1 | Sialidase 1 (lysosomal sialidase) |
| NFAT5 | XM_002694839.2 | Nuclear factor of activated T-cells 5, tonicity-responsive |
| NFE2 | NM_001014923.1 | Nuclear factor (erythroid-derived 2), 45kda |
| NFIL3 | NM_001075240.1 | Nuclear factor, interleukin 3 regulated |
| NGEF | NM_001076926.1 | Neuronal guanine nucleotide exchange factor |
| NGFR | NM_001102478.1 | Nerve growth factor receptor |
| NID1 | ENSBTAT00000009531 | Nidogen 1 |
| NIM1 | NM_001205975.1 | Serine/threonine-protein kinase NIM1 |
| NIPSNAP3A | XM_003584685.1 | Nipsnap homolog 3A (C. Elegans) |
| NKD1 | NM_001105453.1 | Naked cuticle homolog 1 (Drosophila) |
| NKG7 | NM_001035279.1 | Natural killer cell group 7 sequence |
| NLGN4Y | XM_003584738.1 | Neuroigin 4, Y-linked-like |
| NLRC3 | XM_002697946.2 | NLR family, CARD domain containing 3 |
| NLRC4 | NM_001192323.2 | NLR family, CARD domain containing 4 |
| NMT2 | NM_174456.2 | N-myristoyltransferase 2 |
| NO66 | NM_001099702.1 | Chromosome 10 open reading frame, human c14orf169 |
| NOG | XM_582573.6 | Noggin |
| NOP58 | NM_001192957.1 | NOP58 ribonucleoprotein homolog (yeast) |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| NOVA1 | NM_001101150.1 | Neuro-oncological ventral antigen 1 |
| NPL | NM_001045978.1 | N-acetylneuraminatate pyruvate lyase (dihydrodipicolinate synthase) |
| NPNT | XM_003586182.1 | Nephronectin |
| NPR2 | ENSBTAT00000065432 | Natriuretic peptide receptor B/guanylate cyclase B (atrionatriuretic peptide receptor B) |
| NR4A1 | NM_001075911.1 | Nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1 |
| NRIP3 | NM_001102218.1 | Nuclear receptor interacting protein 3 |
| NRM | NM_001037596.1 | Nurim (nuclear envelope membrane protein) |
| NRXN1 | ENSBTAT00000047691 | Neurexin-1-beta |
| NTF4 | XM_002695202.2 | Neurotrophin 4 |
| NTRK1 | XM_002685965.2 | Neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 1 |
| NUMBL | NM_001076834.1 | Numb homolog (Drosophila)-like |
| ODZ1 | XM_003584669.1 | Odz, odd Oz/ten-m homolog 1 (Drosophila) |
| OLFML2A | ENSBTAT0000006372 | Olfactomedin-like 2A |
| OR5D18 | XM_593553.2 | Olfactory receptor, family 5, subfamily D, member 18 |
| ORAI2 | NM_001191348.1 | ORAI calcium release-activated calcium modulator 2 |
| OSBPL8 | XM_002687171.2 | Oxysterol binding protein-like 8 |
| OSMR | NM_001080272.2 | Oncostatin M receptor |
| OSTALPHA | NM_001025333.1 | Organic solute transporter alpha |
| OXSM | NM_001075624.1 | 3-oxoacyl-ACP synthase, mitochondrial |
| P2RY1 | NM_174410.2 | Purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 1 |
| PABPC5 | NM_001192289.1 | Poly(A) binding protein, cytoplasmic 5 |
| PALM3 | XM_002688741.2 | Paralemmin 3 |
| PALMD | NM_001035079.1 | Palmdelphin |
| PANX2 | NM_001102225.1 | Pannexin 2 |
| PARVG | NM_001083805.1 | Parvin, gamma |
| PCDHB7 | ENSBTAT00000065512 | Protocadherin beta 7 |
| PCGF2 | NM_001144106.1 | Polycomb group ring finger 2 |
| PCK2 | NM_001205594.1 | Phosphoenolpyruvate carboxykinase 2 (mitochondrial) |
| PCNXL2 | XM_002698790.2 | Pecanex-like 2 (Drosophila) |
| PCOLCE | NM_001045888.1 | Procollagen C-endopeptidase enhancer |
| PDE10A | XM_005211116.2 | Phosphodiesterase 10A |
| PDE11A | NM_001205422.1 | Phosphodiesterase 11A |
| PDE4D | XM_003587511.1 | Phosphodiesterase 4D, camp-specific |
| PDGFB | NM_001017953.2 | Platelet-derived growth factor beta polypeptide |
| PDGFRL | NM_001035301.1 | Platelet-derived growth factor receptor-like |
| PDLIM3 | NM_001034646.1 | PDZ and LIM domain 3 |
| PDLIM7 | NM_001113251.1 | PDZ and LIM domain 7 (enigma) |
| PDX1 | NM_001192136.1 | Pancreatic and duodenal homeobox 1 |
| PEA15 | NM_001075456.1 | Phosphoprotein enriched in astrocytes 15 |
| PEBP4 | NM_001034440.1 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 4 |
| PECAM1 | NM_174571.3 | Platelet/endothelial cell adhesion molecule |
| PECR | XM_002685568.2 | Peroxisomal trans-2-enoyl-coa reductase |
| PGBD2 | ENSBTAT00000026396 | Piggybac transposable element derived 2 |
| PGR | ENSBTAT00000010545 | Progesterone receptor |
| PHKA1 | XM_604349.3 | Phosphorylase kinase, alpha 1 (muscle) |
| PHKG2 | NM_001046128.1 | Phosphorylase kinase, gamma 2 (testis) |

| | | |
|----------|--------------------|---|
| PHTF2 | NM_001191316.1 | Putative homeodomain transcription factor 2 |
| PIK3C2A | ENSBTAT00000046627 | Phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase, catalytic subunit type 2 alpha |
| PIK3CD | NM_001205548.1 | Phosphoinositide-3-kinase, catalytic, delta polypeptide |
| PIK3R3 | NM_174796.1 | Phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 3 (gamma) |
| PILRA | XM_870106.5 | Uncharacterized LOC617785 |
| PKDCC | NM_001206721.1 | Protein kinase domain containing, cytoplasmic homolog (mouse) |
| PLA2G15 | NM_174560.2 | Phospholipase A2, group XV |
| PLA2G2F | NM_001102522.1 | Phospholipase A2, group IIF |
| PLAUR | NM_174423.3 | Plasminogen activator, urokinase receptor |
| PLCL1 | NM_001191279.1 | Phospholipase C-like 1 |
| PLCXD1 | ENSBTAT00000066297 | Phosphatidylinositol-specific phospholipase C, X domain containing 1 |
| PLD3 | NM_001078041.1 | Phospholipase D family, member 3 |
| PLEKHG2 | XM_866405.4 | Pleckstrin homology domain containing, family G (with rhogef domain) member 2 |
| PLIN1 | NM_001083699.1 | Perilipin 1 |
| PLK3 | NM_001075153.1 | Polo-like kinase 3 |
| PLN | NM_001103319.1 | Phospholamban |
| PLSCR4 | NM_001081732.1 | Phospholipid scramblase 4 |
| PLXNA2 | NM_001206657.1 | Plexin A2 |
| PLXNA3 | ENSBTAT00000030185 | Plexin A3 |
| PMAIP1 | XM_002697779.2 | Phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1 |
| POLR2M | ENSBTAT00000002839 | Polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide M |
| PPAP2A | NM_001080329.1 | Phosphatidic acid phosphatase type 2A |
| PPARA | NM_001034036.1 | Peroxisome proliferator-activated receptor alpha |
| PPARG | NM_181024.2 | Peroxisome proliferator-activated receptor gamma |
| PPFIA2 | XM_001788107.2 | Protein tyrosine phosphatase, receptor type, f polypeptide (PTPRF), interacting protein (liprin), alpha 2 |
| PPIC | NM_001076910.1 | Peptidylprolyl isomerase C (cyclophilin C) |
| PPIF | NM_001001597.1 | Peptidylprolyl isomerase F |
| PPP1R12A | NM_001102217.1 | Protein phosphatase 1, regulatory subunit 12A |
| PPP2R3A | NM_001102346.1 | Protein phosphatase 2, regulatory subunit B'', alpha |
| PPP4R4 | XM_001790303.3 | Protein phosphatase 4, regulatory subunit 4 |
| PQLC1 | NM_001076893.1 | PQ loop repeat containing 1 |
| PRDM5 | NM_001192907.1 | PR domain containing 5 |
| PRELID2 | ENSBTAT00000060989 | PRELI domain containing 2 |
| PRKAR2B | NM_174649.2 | Protein kinase, camp-dependent, regulatory, type II, beta |
| PROM2 | XM_002691159.1 | Prominin 2 |
| PROS1 | NM_174438.1 | Protein S (alpha) |
| PROZ | XM_002692014.2 | Protein Z, vitamin K-dependent plasma glycoprotein |
| PRR16 | ENSBTAT00000066344 | Proline rich 16 |
| PRRX2 | ENSBTAT00000003817 | Paired related homeobox 2 |
| PRSS23 | NM_001080306.1 | Protease, serine, 23 |
| PSMB8 | NM_001040480.1 | Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 8 (large multifunctional peptidase 7) |
| PTAFR | ENSBTAT00000038757 | Platelet-activating factor receptor |
| PTCH1 | XM_005210407.2 | Patched 1 |
| PTCHD3 | XM_002698176.1 | Patched domain containing 3 |

| | | |
|---------|----------------|---|
| PTGS1 | NM_001105323.1 | Prostaglandin-endoperoxide synthase 1 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase) |
| PTHLH | NM_174753.1 | Parathyroid hormone-like hormone |
| PTK7 | NM_001192965.1 | PTK7 protein tyrosine kinase 7 |
| PTN | NM_173955.1 | Pleiotrophin |
| PTPN11 | NM_001192779.1 | Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11 |
| PTPN21 | XM_002691087.2 | Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 21 |
| PXDN | XM_002683948.2 | Peroxidasin homolog (Drosophila) |
| QKI | NM_001007817.1 | QKI, KH domain containing, RNA binding |
| QPCTL | NM_001075940.2 | Glutaminyl-peptide cyclotransferase-like |
| QPRT | NM_001035446.1 | Quinolate phosphoribosyltransferase |
| RAB15 | NM_001046538.1 | RAB15, member RAS oncogene family |
| RAB33A | NM_001192993.1 | RAB33A, member RAS oncogene family |
| RAB3B | NM_174447.3 | RAB3B, member RAS oncogene family |
| RAI14 | XM_002696398.2 | Retinoic acid induced 14 |
| RARG | NM_001130756.1 | Retinoic acid receptor, gamma |
| RASGRP2 | NM_001099946.1 | RAS guanyl releasing protein 2 (calcium and DAG-regulated) |
| RASGRP4 | NM_001035379.2 | RAS guanyl releasing protein 4 |
| RASL11B | NM_001015635.2 | RAS-like, family 11, member B |
| RBMS3 | XM_002696871.2 | RNA binding motif, single stranded interacting protein 3 |
| RCAN1 | NM_001034679.1 | Regulator of calcineurin 1 |
| RCN1 | NM_001103221.1 | Reticulocalbin 1, EF-hand calcium binding domain |
| RCN3 | NM_001046260.1 | Reticulocalbin 3, EF-hand calcium binding domain |
| RECK | NM_001192465.1 | Reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs |
| REM1 | NM_001046001.1 | RAS (RAD and GEM)-like GTP-binding 1 |
| REV3L | NM_001206172.1 | REV3-like, catalytic subunit of DNA polymerase zeta (yeast) |
| RGNEF | NM_001102307.1 | 190 kda guanine nucleotide exchange factor |
| RGS10 | NM_001046540.1 | Regulator of G-protein signaling 10 |
| RGS16 | NM_174450.3 | Regulator of G-protein signaling 16 |
| RHBDF2 | XM_596084.4 | Rhomboid 5 homolog 2 (Drosophila) |
| RHOH | NM_001078124.1 | Ras homolog gene family, member H |
| RHOQ | NM_001205498.1 | Ras homolog gene family, member Q |
| RIN2 | NM_001102204.1 | Ras and Rab interactor 2 |
| RIPK3 | NM_001101884.1 | Receptor-interacting serine-threonine kinase 3 |
| RMI2 | NM_001099720.1 | RMI2, recq mediated genome instability 2, homolog (S. Cerevisiae) |
| RNASE10 | XM_002690744.1 | Ribonuclease, rnase A family, 10 (non-active) |
| RNASE4 | NM_001040590.1 | Ribonuclease, rnase A family, 4 |
| RNF125 | NM_001205859.1 | Ring finger protein 125 |
| RNF144A | XM_002691488.2 | Ring finger protein 144A |
| RNF207 | NM_001078057.1 | Ring finger protein 207 |
| ROR2 | NM_001105464.2 | Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2 |
| RSPO1 | NM_001105621.1 | R-spondin 1 |
| RSPO3 | NM_001076034.1 | R-spondin 3 |
| RTN4RL1 | XM_586643.4 | Reticulon 4 receptor-like 1 |
| SAMD1 | XM_001250641.3 | Sterile alpha motif domain containing 1 |
| SAMD14 | NM_001105018.1 | Sterile alpha motif domain containing 14 |
| SAMD5 | NM_001168606.1 | Sterile alpha motif domain containing 5 |

| | | |
|----------|--------------------|---|
| SAMSN1 | NM_001035404.1 | SAM domain, SH3 domain and nuclear localization signals 1 |
| SASH3 | NM_001077998.1 | SAM and SH3 domain containing 3 |
| SCARB1 | NM_174597.2 | Scavenger receptor class B, member 1 |
| SCIN | NM_174177.2 | Scinderin |
| SCN4B | NM_001076912.1 | Sodium channel, voltage-gated, type IV, beta |
| SDC1 | NM_001075924.1 | Syndecan 1 |
| SDC2 | NM_001034788.2 | Syndecan 2 |
| SDPR | XM_610845.5 | Serum deprivation response |
| SECTM1A | NM_001076529.1 | Secreted and transmembrane protein 1A |
| SELL | NM_174182.1 | Selectin L |
| SELM | NM_001163171.1 | Selenoprotein M |
| SELRC1 | XM_598765.4 | Sel1 repeat containing 1 |
| SEMA3A | XM_002686736.2 | Sema domain, immunoglobulin domain (Ig), short basic domain, secreted, (semaphorin) 3A |
| SEMA4G | NM_001101117.1 | Sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4G |
| SEMA5B | XM_001788280.1 | Sema domain, seven thrombospondin repeats (type 1 and type 1-like), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 5B |
| SEPW1 | NM_001163225.1 | Selenoprotein W, 1 |
| SERINC5 | XM_580814.4 | Serine incorporator 5 |
| SERTM1 | XM_002700918.1 | Serine-rich and transmembrane domain containing 1 |
| SETD9 | XM_002696320.1 | SET domain containing 9 |
| SH2D2A | NM_001105401.1 | SH2 domain containing 2A |
| SH2D3C | NM_001098039.1 | SH2 domain containing 3C |
| SH2D4A | XM_002698743.2 | SH2 domain containing 4A |
| SH3PXD2A | ENSBTAT00000061357 | SH3 and PX domains 2A |
| SH3TC2 | XM_002689285.1 | SH3 domain and tetratricopeptide repeats 2 |
| SHC2 | XM_002689160.2 | SHC (Src homology 2 domain containing) transforming protein 2 |
| SHE | NM_001098140.1 | Src homology 2 domain containing E |
| SIGLEC5 | XM_002695237.2 | Sialic acid binding Ig-like lectin 5 |
| SIPA1L2 | NM_001206220.1 | Signal-induced proliferation-associated 1 like 2 |
| SIRPB1 | NM_001080911.1 | Signal-regulatory protein beta 1 |
| SKA2 | NM_001038579.2 | Spindle and kinetochore associated complex subunit 2 |
| SLAMF8 | NM_001205794.1 | SLAM family member 8 |
| SLC12A2 | NM_174782.2 | Solute carrier family 12 (sodium/potassium/chloride transporters), member 2 |
| SLC13A3 | NM_001080288.1 | Solute carrier family 13 (sodium-dependent dicarboxylate transporter), member 3 |
| SLC16A1 | NM_001037319.1 | Solute carrier family 16, member 1 (monocarboxylic acid transporter 1) |
| SLC16A2 | NM_001206939.1 | Solute carrier family 16, member 2 (monocarboxylic acid transporter 8) |
| SLC22A17 | NM_001130755.1 | Solute carrier family 22, member 17 |
| SLC25A15 | NM_001046326.1 | Solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; ornithine transporter) member 15 |
| SLC26A10 | XM_001789606.1 | Solute carrier family 26, member 10 |
| SLC26A2 | NM_001040525.1 | Solute carrier family 26 (sulfate transporter), member 2 |
| SLC27A4 | NM_001075667.1 | Solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 4 |
| SLC29A4 | NM_001193196.1 | Solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 4 |
| SLC30A4 | XM_002690940.2 | Solute carrier family 30 (zinc transporter), member 4 |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| SLC35A2 | NM_176640.2 | Solute carrier family 35 (UDP-galactose transporter), member A2 |
| SLC35A3 | NM_001105386.1 | Solute carrier family 35 (UDP-N-acetylglucosamine (UDP-glcnac) transporter), member A3 |
| SLC35E4 | NM_001205905.2 | Solute carrier family 35, member E4 |
| SLC38A11 | NM_001031760.1 | Solute carrier family 38, member 11 |
| SLC40A1 | NM_001077970.1 | Solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1 |
| SLC41A2 | NM_001205910.1 | Solute carrier family 41, member 2 |
| SLC6A1 | NM_001077836.1 | Solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, GABA), member 1 |
| SLCO4C1 | NM_001192846.1 | Solute carrier organic anion transporter family, member 4C1 |
| SLITRK3 | ENSBTAT00000022827 | SLIT and NTRK-like family, member 3 |
| SMAD9 | NM_001076928.1 | SMAD family member 9 |
| SMCP | NM_001008417.2 | Sperm mitochondria-associated cysteine-rich protein |
| SMN1 | NM_175701.1 | Survival of motor neuron 1, telomeric |
| SMPD5 | XM_001789297.3 | Sphingomyelin phosphodiesterase 5 |
| SMPX | NM_001037626.1 | Small muscle protein, X-linked |
| SMTNL1 | XM_002707731.1 | Smoothelin-like 1 |
| SNAI1 | NM_001112708.1 | Snail homolog 1 (Drosophila) |
| SNAP91 | ENSBTAT00000012314 | Synaptosomal-associated protein, 91kda homolog (mouse) |
| SNCA | NM_001034041.1 | Synuclein, alpha (non A4 component of amyloid precursor) |
| SNN | NM_001113722.1 | Stannin |
| SNORA5 | ENSBTAT00000060390 | Small nucleolar RNA SNORA5 |
| SNORA66 | ENSBTAT00000059118 | Small nucleolar RNA SNORA66 |
| SNORD112 | ENSBTAT00000061759 | Small nucleolar RNA SNORD112 |
| SNORD113 | ENSBTAT00000059430 | Small nucleolar RNA SNORD113/SNORD114 family |
| SNORD123 | ENSBTAT00000061933 | Small nucleolar RNA SNORD123 |
| SNTA1 | NM_001075898.1 | Syntrophin, alpha 1 (dystrophin-associated protein A1, 59kda, acidic component) |
| SNTB1 | XM_002692812.2 | Syntrophin, beta 1 (dystrophin-associated protein A1, 59kda, basic component 1) |
| SOAT1 | NM_001034206.1 | Sterol O-acyltransferase 1 |
| SOCS2 | NM_177523.2 | Suppressor of cytokine signaling 2 |
| SOGA1 | XM_002692311.2 | Suppressor of glucose, autophagy associated 1 |
| SORBS2 | ENSBTAT00000054109 | Sorbin and SH3 domain containing 2 |
| SOX11 | XM_001250191.1 | SRY-box 11-like |
| SOX12 | XM_010811633.1 | SRY (sex determining region Y)-box 12 |
| SOX4 | ENSBTAT00000064038 | SRY (sex determining region Y)-box 4 |
| SOX8 | XM_002697973.2 | SRY (sex determining region Y)-box 8 |
| SP100 | XM_001789440.2 | SP100 nuclear antigen |
| SP140 | NM_001075447.1 | SP140 nuclear body protein |
| SPIN4 | XM_002700137.1 | Spindlin family, member 4 |
| SPRED1 | NM_001192516.1 | Sprouty-related, EVH1 domain containing 1 |
| SPSB4 | NM_001192337.1 | Spla/ryanodine receptor domain and SOCS box containing 4 |
| SST | NM_173960.1 | Somatostatin |
| ST14 | ENSBTAT00000026272 | Suppression of tumorigenicity 14 (colon carcinoma) |
| STARD13 | NM_001192070.1 | Star-related lipid transfer (START) domain containing 13 |
| STARD9 | XM_010809237.1 | Star-related lipid transfer (START) domain containing 9 |
| STEAP2 | NM_001077847.1 | STEAP family member 2, metalloredutase |

| | | |
|-----------------|--------------------|---|
| STRADB | NM_001192081.2 | STE20-related kinase adaptor beta |
| STX1A | NM_001083798.1 | Syntaxin 1A (brain) |
| STXBP6 | NM_001076038.1 | Syntaxin binding protein 6 (amisyn) |
| STYX | XM_002690461.1 | Serine/threonine/tyrosine interacting protein |
| SULF1 | ENSBTAT00000037267 | Sulfatase 1 |
| SVOPL | NM_001192500.1 | SVOP-like |
| SWAP70 | NM_001080297.2 | SWAP switching B-cell complex 70kda subunit |
| SYNGR3 | NM_001082464.1 | Synaptogyrin 3 |
| SYNPO2 | NM_001083751.1 | Synaptopodin 2 |
| SYT11 | NM_001099171.1 | Synaptotagmin XI |
| SYT9 | XM_003583113.1 | Synaptotagmin IX |
| TAC3 | NM_181017.1 | Tachykinin 3 |
| TAGAP | NM_001076823.1 | T-cell activation rhogtpase activating protein |
| TBKBP1 | XM_001253300.4 | TBK1 binding protein 1 |
| TBXA2R | NM_001167919.1 | Thromboxane A2 receptor |
| TCF15 | NM_001081721.1 | Transcription factor 15 (basic helix-loop-helix) |
| TCF23 | NM_001038216.1 | Transcription factor 23 |
| TCF3 | NM_001192698.1 | Transcription factor 3 (E2A immunoglobulin enhancer binding factors E12/E47) |
| TCFL5 | XM_003586831.1 | Transcription factor-like 5 (basic helix-loop-helix) |
| TCN2 | NM_174195.3 | Transcobalamin II |
| TEAD4 | XM_002687882.1 | TEA domain family member 4 |
| Telomerase-vert | ENSBTAT00000059784 | Vertebrate telomerase RNA |
| TERC | ENSBTAT00000060149 | Telomerase RNA component |
| TEX11 | XM_593293.4 | Testis expressed 11 |
| TFAP2C | NM_001075509.1 | Transcription factor AP-2 gamma (activating enhancer binding protein 2 gamma) |
| TFEC | NM_001083739.1 | Transcription factor EC |
| TGFB1 | NM_001166068.1 | Transforming growth factor, beta 1 |
| TGFB3 | NM_001101183.1 | Transforming growth factor, beta 3 |
| TGFBI | NM_001205402.1 | Transforming growth factor, beta-induced, 68kda |
| THBS2 | NM_176872.1 | Thrombospondin 2 |
| THBS4 | NM_001034728.1 | Thrombospondin 4 |
| TIMD4 | NM_001075320.1 | T-cell immunoglobulin and mucin domain containing 4 |
| TIMELESS | XM_003582219.1 | Timeless homolog (Drosophila) |
| TIMP3 | NM_174473.3 | TIMP metallopeptidase inhibitor 3 |
| TLN2 | XM_002690844.1 | Talin 2 |
| TLR3 | NM_001008664.1 | Toll-like receptor 3 |
| TM4SF1 | NM_001075980.1 | Transmembrane 4 L six family member 1 |
| TMC7 | XM_002698015.2 | Transmembrane channel-like 7 |
| TMEFF1 | XM_010808202.1 | Transmembrane protein with EGF-like and two follistatin-like domains 1 |
| TMEM123 | XM_002692936.2 | Transmembrane protein 123 |
| TMEM2 | NM_001192415.1 | Transmembrane protein 2 |
| TMEM38A | NM_001083463.1 | Transmembrane protein 38A |
| TMEM65 | NM_001076318.1 | Transmembrane protein 65 |
| TMEM88 | NM_001098378.1 | Transmembrane protein 88 |
| TMEM92 | NM_001083651.1 | Transmembrane protein 92 |

| | | |
|-----------|--------------------|---|
| TMOD1 | NM_001079640.1 | Tropomodulin 1 |
| TMOD3 | ENSBTAT00000066137 | Tropomodulin-3 |
| TMSB4 | NM_001113231.1 | Thymosin beta 4, X-linked |
| TMSB4X | NM_001002885.1 | Thymosin beta 4, X-linked |
| TNFAIP8L3 | ENSBTAT00000056282 | Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 8-like 3 Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10d, decoy with truncated death domain |
| TNFRSF10D | NM_001102327.1 | Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B |
| TNFRSF1B | NM_001040490.1 | Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10 |
| TNFSF10 | XM_002684917.1 | Troponin C type 1 (slow) |
| TNNC1 | NM_001034351.1 | Tensin 1 |
| TNS1 | NM_174766.2 | Tumor protein p53 |
| TP53 | NM_174201.2 | Two pore channel 3 |
| TPC3 | NM_001161651.1 | Tropomyosin 4 |
| TPM4 | NM_001101162.1 | Tryptase beta 1 |
| TPSB1 | NM_174202.2 | TNF receptor-associated factor 5 |
| TRAF5 | NM_001105340.1 | Triggering receptor expressed on myeloid cells 2 |
| TREM2 | NM_001079580.1 | Tripartite motif containing 45 |
| TRIM45 | NM_001014952.1 | Cdc42-interacting protein 4 |
| TRIP10 | ENSBTAT00000018391 | Transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1 |
| TRPA1 | XM_581588.6 | Transient receptor potential channel 2 |
| TRPC2 | NM_174477.3 | Transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 2 |
| TRPV2 | NM_001024493.1 | Teashirt zinc finger homeobox 3 |
| TSHZ3 | XM_592300.6 | Tetraspanin 11 |
| TSPAN11 | NM_001080325.1 | Tetraspanin 12 |
| TSPAN12 | NM_001046512.1 | Thrombospondin-type laminin G domain and EAR repeats |
| TSPEAR | NM_001206810.1 | Tetratricopeptide repeat domain 21B |
| TTC21B | NM_001102108.1 | Tweety homolog 2 (Drosophila) |
| TTYH2 | NM_001105626.1 | Tubulin, beta 2A class iia |
| TUBB2A | XM_002697606.1 | Tubulin, beta 2B class iib |
| TUBB2B | NM_001003900.1 | Tubulin, beta 6 class V |
| TUBB6 | NM_001046373.1 | Twinfilin, actin-binding protein, homolog 2 (Drosophila) |
| TWF2 | NM_001105324.1 | TXK tyrosine kinase |
| TXK | NM_001206148.1 | Thioredoxin domain containing 17 |
| TXNDC17 | NM_001205821.1 | TYRO protein tyrosine kinase binding protein |
| TYROBP | NM_174627.1 | U1 spliceosomal RNA |
| U1 | ENSBTAT00000040418 | U2 spliceosomal RNA |
| U2 | ENSBTAT00000040476 | U5 spliceosomal RNA |
| U5 | ENSBTAT00000061965 | U6 spliceosomal RNA |
| U6 | ENSBTAT00000059352 | UDP-glucose glycoprotein glucosyltransferase 2 |
| UGGT2 | XM_002691971.1 | Unc-13 homolog B (C. Elegans) |
| UNC13B | NM_001193239.1 | Unc-5 homolog B (C. Elegans) |
| UNC5B | NM_001099029.1 | Urocanase domain containing 1 |
| UROC1 | XM_606660.4 | UTP18, small subunit (SSU) processome component, homolog (yeast) |
| UTP18 | NM_001098879.1 | Vasohibin 2 |
| VASH2 | NM_001079611.1 | Vasorin |
| VASN | NM_001083796.1 | |

| | | |
|---------|---------------------|--|
| VAV1 | NM_001078074.1 | Vav 1 guanine nucleotide exchange factor |
| VCAN | NM_181035.2 | Versican |
| VCL | NM_001078093.1 | Vinculin |
| VIPR2 | NM_001206781.1 | Vasoactive intestinal peptide receptor 2 |
| VMP1 | NM_001075368.1 | Vacuole membrane protein 1 |
| WC1.2 | XM_001250405.1 | WC1.2 molecule |
| WC1-12 | XM_003586131.3 | WC1 isolate DV10 |
| WC1-2 | XM_010805600.1 | WC1-2 protein |
| WDFY4 | NM_001205945.1 | WDFY family member 4 |
| WDR67 | NM_001046073.1 | WD repeat domain 67 |
| WDR86 | NM_001191339.1 | WD repeat domain 86 |
| WIF1 | NM_001075996.1 | WNT inhibitory factor 1 |
| WIPI1 | NM_001099040.1 | WD repeat domain, phosphoinositide interacting 1 |
| WISP1 | ENSBTAT00000000946 | WNT1 inducible signaling pathway protein 1 |
| WLS | NM_001192651.1 | Wntless homolog (Drosophila) |
| WNK3 | XM_003584707.1 | WNK lysine deficient protein kinase 3 |
| WNT10B | ENSBTAT000000020402 | Wingless-type MMTV integration site family, member 10B |
| WNT5B | NM_001205628.1 | Wingless-type MMTV integration site family, member 5B |
| WNT7B | ENSBTAT000000012540 | Wingless-type MMTV integration site family, member 7B |
| WTIP | NM_001205562.1 | Wilms tumor 1 interacting protein |
| XDH | NM_173972.2 | Xanthine dehydrogenase |
| ZBTB8B | XM_002685612.1 | Zinc finger and BTB domain containing 8B |
| ZCCHC11 | NM_001206930.1 | Zinc finger, CCHC domain containing 11 |
| ZDHHC17 | NM_001206069.1 | Zinc finger, DHHC-type containing 17 |
| ZDHHC9 | NM_001034561.2 | Zinc finger, DHHC-type containing 9 |
| ZEB1 | NM_001206590.1 | Zinc finger E-box binding homeobox 1 |
| ZEB2 | ENSBTAT000000061551 | Zinc finger E-box binding homeobox 2 |
| ZFP90 | XM_002694906.2 | Zinc finger protein 90 homolog (mouse) |
| ZHX1 | NM_001110095.1 | Zinc fingers and homeoboxes 1 |
| ZNF300 | XM_002689309.1 | Zinc finger protein 300 |
| ZNF385B | NM_001083502.1 | Zinc finger protein 385B |
| ZNF469 | ENSBTAT000000063301 | Zinc finger protein 469 |
| ZNF569 | XM_864866.3 | Zinc finger protein 569 |
| ZNF618 | XM_003586437.1 | Zinc finger protein 618 |
| ZNF711 | NM_001205925.1 | Zinc finger protein 711 |
| ZNF713 | NM_001110444.1 | Zinc finger protein 713 |
| ZNF81 | XM_002700089.1 | Zinc finger protein 81 |
| ZNF84 | XM_002694428.2 | Zinc finger protein 84 |
| ZYX | NM_001078101.1 | Zyxin |
| ZZEF1 | NM_001206129.1 | Zinc finger, ZZ-type with EF-hand domain 1 |

Anexo IV Listado de genes agrupados (SOTA3)

| Símbolo oficial | Acceso | Nombre |
|------------------------|----------------|---|
| ABAT | NM_001081581.1 | 4-aminobutyrate aminotransferase |
| ABCA1 | NM_001024693.1 | ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 1 |

| | | |
|--------------|--------------------|---|
| ABTB2 | XM_003587004.1 | Ankyrin repeat and BTB (POZ) domain containing 2 |
| ACP5 | XM_002688849.2 | Acid phosphatase 5, tartrate resistant |
| ACSL3 | NM_001205468.1 | Acyl-coa synthetase long-chain family member 3 |
| ACTC1 | NM_001034585.1 | Actin, alpha, cardiac muscle 1 |
| ADCY3 | NM_001206084.1 | Adenylate cyclase 3 |
| ADORA3 | NM_001104611.1 | Adenosine A3 receptor |
| AGPAT9 | NM_001192514.1 | 1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 9 |
| AK5 | NM_001083757.1 | Adenylate kinase 5 |
| AKAP12 | ENSBTAT00000019669 | A kinase (PKA) anchor protein 12 |
| AKR1C3 | XM_001250575.4 | Aldo-keto reductase family 1, member C1 |
| ALS2 | XM_615861.5 | Amyotrophic lateral sclerosis 2 (juvenile) |
| APH1B | NM_001191403.1 | Anterior pharynx defective 1 homolog B (C. Elegans) |
| APOBR | XM_002698084.2 | Apolipoprotein B receptor |
| APP | NM_001076796.1 | Amyloid beta (A4) precursor protein |
| ARHGEF4 | NM_001192073.1 | Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 4 |
| AR SJ | XM_002688099.1 | Arylsulfatase family, member J |
| ATP13A3 | NM_001192585.1 | Atpase type 13A3 |
| ATP1B1 | NM_001035334.1 | Atpase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, beta 1 polypeptide |
| ATP1B3 | NM_001035393.1 | Atpase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, beta 3 polypeptide |
| B3GNT2 | NM_001102497.1 | UDP-glcnac:betagal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 2 |
| B3GNT6 | NM_001103307.1 | UDP-glcnac:betagal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 6 (core 3 synthase) |
| C11H9orf114 | XM_002691638.2 | Chromosome 11 open reading frame, human c9orf114 |
| C13H20orf7 | NM_001206395.1 | Chromosome 13 open reading frame, human c20orf7 |
| C16H1orf105 | NM_001205494.1 | Chromosome 16 open reading frame, human c1orf105 |
| C1QB | NM_001046599.1 | Complement component 1, q subcomponent, B chain |
| C1QBP | NM_001034527.1 | Complement component 1, q subcomponent binding protein |
| C1QC | ENSBTAT00000014865 | Complement C1q subcomponent subunit C precursor |
| C1QTNF6 | NM_001101872.1 | C1q and tumor necrosis factor related protein 6 |
| C22H3orf32 | XR_083114.2 | Chromosome 22 open reading frame, human c3orf32 |
| C28H10orf10 | NM_001046515.1 | Chromosome 28 open reading frame, human c10orf10 |
| C28H10orf116 | NM_001114513.1 | Chromosome 28 open reading frame, human c10orf116 |
| C3AR1 | NM_001083752.1 | Complement component 3a receptor 1 |
| C3orf32 | ENSBTAT00000065011 | Chromosome 3 open reading frame 32 |
| C5 | NM_001166616.1 | Complement component 5 |
| C6H4orf32 | NM_001076961.1 | Chromosome 6 open reading frame, human c4orf32 |
| C7 | NM_001045966.1 | Complement component 7 |
| CA10 | NM_001079609.1 | Carbonic anhydrase X |
| CAPN1 | NM_174259.2 | Calpain 1, (mu/l) large subunit |
| CC2D2B | XM_002698404.1 | Coiled-coil and C2 domain containing 2B |
| CCDC109B | NM_001075171.1 | Coiled-coil domain containing 109B |
| CCL24 | NM_001046596.1 | Chemokine (C-C motif) ligand 24 |
| CCR7 | NM_001024930.2 | Chemokine (C-C motif) receptor 7 |
| CD22 | XM_002695015.2 | CD22 molecule |
| CD38 | NM_175798.3 | CD38 molecule |
| CD3D | NM_001034033.1 | CD3d molecule, delta (CD3-TCR complex) |
| CD52 | NM_001198996.1 | CD52 molecule |

| | | |
|------------|--------------------|---|
| CD8A | NM_174015.1 | CD8a molecule |
| CEACAM1 | NM_205788.1 | Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (biliary glycoprotein) |
| CHRD1 | ENSBTAT00000005810 | Chordin-like 1 |
| CHST1 | ENSBTAT00000004844 | Carbohydrate sulfotransferase 1 precursor |
| CIB2 | ENSBTAT00000014575 | Calcium and integrin binding family member 2 |
| CL43 | NM_001002237.1 | Collectin-43 |
| CL46 | NM_001001856.1 | Collectin -46 |
| CLCN2 | NM_001102487.1 | Chloride channel 2 |
| CLDN22 | XM_867997.1 | Claudin 22 |
| CLDN4 | NM_001014391.2 | Claudin 4 |
| CLEC10A | XM_002695798.2 | C-type lectin domain family 10, member A |
| CLIC5 | NM_174276.2 | Chloride intracellular channel 5 |
| CLN3 | NM_001075174.2 | Ceroid-lipofuscinosis, neuronal 3 |
| CLN8 | NM_001075941.2 | Ceroid-lipofuscinosis, neuronal 8 (epilepsy, progressive with mental retardation) |
| CMBL | NM_001192983.1 | Carboxymethylenebutenolidase homolog (Pseudomonas) |
| CMTM7 | NM_001075960.1 | CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing 7 |
| CNIH3 | NM_001206204.1 | Cornichon homolog 3 (Drosophila) |
| COL4A6 | XM_002699886.1 | Collagen, type IV, alpha 6 |
| COMTD1 | NM_001105368.1 | Catechol-O-methyltransferase domain containing 1 |
| CRYL1 | NM_174293.2 | Crystallin, lambda 1 |
| CSGALNACT2 | NM_001205653.1 | Chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 2 |
| CSNK1B | NM_001098159.1 | Casein kinase I beta |
| CSTB | NM_001100362.1 | Cystatin B (stefin B) |
| CTNNBIP1 | NM_001037142.1 | Catenin, beta interacting protein 1 |
| CXCL14 | NM_001034410.1 | Chemokine (C-X-C motif) ligand 14 |
| CXCR3 | ENSBTAT00000019690 | C-X-C chemokine receptor type 3 |
| CXCR6 | NM_001014859.1 | Chemokine (C-X-C motif) receptor 6 |
| CXHXorf69 | NM_001163442.1 | Uncharacterized LOC100302527 |
| CYB5B | NM_001163782.1 | Cytochrome b5 type B (outer mitochondrial membrane) |
| CYP4V2 | NM_001034373.1 | Cytochrome P450, family 4, subfamily V, polypeptide 2 |
| DBI | NM_001113321.1 | Diazepam binding inhibitor (GABA receptor modulator, acyl-coa binding protein) |
| DDAH1 | NM_001102201.1 | Dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 |
| DLGAP4 | ENSBTAT00000002286 | Discs, large (Drosophila) homolog-associated protein 4 |
| DMPK | XM_002695096.2 | Dystrophia myotonica-protein kinase |
| DNAJC11 | NM_001045993.1 | Dnaj (Hsp40) homolog, subfamily C, member 11 |
| DPEP2 | XM_586714.4 | Dipeptidase 2 |
| DPYSL5 | NM_001109964.1 | Dihydropyrimidinase-like 5 |
| DSB | NM_001083785.1 | MHC class II antigen DS beta |
| ECI2 | NM_001034242.2 | Enoyl-coa delta isomerase 2 |
| EFNA1 | NM_001034292.1 | Ephrin-A1 |
| EIF5A2 | NM_001192089.1 | Eukaryotic translation initiation factor 5A2 |
| ELMO1 | NM_001113227.1 | Engulfment and cell motility 1 |
| ELOVL6 | NM_001102155.1 | ELOVL fatty acid elongase 6 |
| ELOVL7 | NM_001078042.1 | ELOVL fatty acid elongase 7 |
| EMR1 | XM_003586264.1 | EGF-like module-containing mucin-like hormone receptor-like 1-like |

| | | |
|---------|--------------------|--|
| ENPP1 | NM_001206212.1 | Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 |
| ENPP5 | ENSBTAT00000057413 | Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 5 precursor |
| ERP27 | NM_001038041.1 | Endoplasmic reticulum protein 27 |
| ERRFI1 | NM_001077930.1 | ERBB receptor feedback inhibitor 1 |
| F2RL1 | NM_001046283.1 | Coagulation factor II (thrombin) receptor-like 1 |
| FAM154A | NM_001076170.1 | Family with sequence similarity 154, member A |
| FAM55C | NM_001081529.1 | Family with sequence similarity 55, member C |
| FBXL7 | XM_597007.6 | F-box and leucine-rich repeat protein 7 |
| FBXO31 | XM_591717.6 | F-box protein 31 |
| FCGR3A | NM_001077402.1 | Fc fragment of igg, low affinity iiaa, receptor (CD16a) |
| FGF1 | ENSBTAT00000043056 | Fibroblast growth factor 1 Endothelial cell growth factor beta Endothelial cell growth factor alpha |
| FKBP9 | NM_001046372.1 | FK506 binding protein 9, 63 kda |
| FOLH1 | NM_001101858.1 | Folate hydrolase (prostate-specific membrane antigen) 1 |
| FOLR1 | NM_001206530.1 | Folate receptor 1 (adult) |
| FUCA1 | NM_001046035.1 | Fucosidase, alpha-L- 1, tissue |
| GADD45B | NM_001040604.1 | Growth arrest and DNA-damage-inducible, beta |
| GALNT14 | NM_001192732.1 | UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 14 (galnac-T14) |
| GBGT1 | NM_001076509.1 | Globoside alpha-1,3-N-acetylgalactosaminyltransferase 1 |
| GCA | XM_583697.6 | Grancalcin, EF-hand calcium binding protein |
| GCH1 | XM_001251704.4 | GTP cyclohydrolase 1 |
| GCLC | NM_001083674.1 | Glutamate-cysteine ligase, catalytic subunit |
| GCNT2 | XM_002697593.1 | Glucosaminyl (N-acetyl) transferase 2, I-branching enzyme (I blood group) |
| GDPD1 | NM_001076400.1 | Glycerophosphodiester phosphodiesterase domain containing 1 |
| GFRA1 | NM_001105411.1 | GDNF family receptor alpha 1 |
| GIMAP1 | XM_867611.4 | Gtpase, IMAP family member 1 |
| GIMAP4 | NM_001046060.1 | Gtpase, IMAP family member 4 |
| GJB2 | NM_001083637.1 | Gap junction protein, beta 2, 26kda |
| GJB5 | ENSBTAT00000007517 | Gap junction beta-5 protein |
| GLI4 | XM_002692562.2 | GLI family zinc finger 4 |
| GLRB | NM_174071.2 | Glycine receptor, beta |
| GNS | NM_001075562.1 | Glucosamine (N-acetyl)-6-sulfatase |
| GPR141 | XM_001252806.2 | G protein-coupled receptor 141 |
| GPR153 | XM_597109.6 | G protein-coupled receptor 153 |
| GPR160 | ENSBTAT00000066339 | G protein-coupled receptor 160 |
| GPRIN2 | NM_001205783.1 | G protein regulated inducer of neurite outgrowth 2 |
| GPX6 | ENSBTAT00000015939 | Glutathione peroxidase 6 precursor |
| GRAMD1B | NM_001191419.1 | GRAM domain containing 1B |
| GRHL1 | NM_001076450.1 | Grainyhead-like 1 (Drosophila) |
| GRIK1 | ENSBTAT00000026817 | Glutamate receptor, ionotropic kainate 1 |
| GSTM2 | XM_881439.4 | Glutathione S-transferase M2 |
| GSX1 | NM_001105448.1 | GS homeobox 1 |
| HRSP12 | NM_001034208.1 | Heat-responsive protein 12 |
| HYAL1 | XM_003587640.1 | Hyaluronoglucosaminidase 1 |
| IDH2 | NM_175790.2 | Isocitrate dehydrogenase 2 (NADP+), mitochondrial |

| | | |
|--------------|--------------------|--|
| ILVBL | XM_005208495.2 | Ilvb (bacterial acetolactate synthase)-like |
| IQSEC1 | NM_001206814.2 | IQ motif and Sec7 domain 1 |
| IRAK3 | NM_001190299.1 | Interleukin-1 receptor-associated kinase 3 |
| ISLR | NM_001080729.1 | Immunoglobulin superfamily containing leucine-rich repeat |
| ITGA10 | NM_001205590.1 | Integrin, alpha 10 |
| ITPR1PL1 | ENSBTAT00000049472 | Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor interacting protein-like 1 |
| JARID2 | NM_001192656.1 | Jumonji, AT rich interactive domain 2 |
| KCNS3 | ENSBTAT00000025570 | Potassium voltage-gated channel subfamily S member 3 |
| KCP | XM_002686948.2 | Kielin/chordin-like protein |
| KERA | NM_173910.1 | Keratocan |
| KIAA0355 | NM_001206284.1 | KIAA0355 ortholog |
| KIAA0922 | NM_001076803.1 | KIAA0922 ortholog |
| KIAA2013 | NM_001045942.1 | Kiaa2013 |
| KLF4 | NM_001105385.1 | Kruppel-like factor 4 (gut) |
| KLHL26 | XM_002688529.2 | Kelch-like 26 (Drosophila) |
| KLHL29 | NM_001164494.1 | Kelch-like 29 (Drosophila) |
| KSR2 | NM_001206862.1 | Kinase suppressor of ras 2 |
| LAMA2 | ENSBTAT00000061257 | Laminin, alpha 2 |
| LAPTM4B | ENSBTAT00000016244 | Lysosomal protein transmembrane 4 beta |
| LAT | NM_001104978.1 | Linker for activation of T cells |
| LCP2 | NM_001076844.1 | Lymphocyte cytosolic protein 2 (SH2 domain containing leukocyte protein of 76kda) |
| LGALS9 | NM_001015570.3 | Lectin, galactoside-binding, soluble, 9 |
| LIN7A | NM_001079602.1 | Lin-7 homolog A (C. Elegans) |
| LOC100124406 | NG_007056.1 | Beta-globin psi-2A pseudogene |
| LOC100139201 | XM_001787237.1 | Probable G-protein coupled receptor 160-like |
| LOC100139881 | XM_001790075.1 | Mast cell protease 2-like |
| LOC100141258 | XM_001790356.2 | Uncharacterized LOC100141258 |
| LOC100294726 | XM_003582466.1 | Uncharacterized LOC100294726 |
| LOC100294818 | XM_002701615.1 | Uncharacterized LOC100294818 |
| LOC100295004 | XM_002704384.2 | Uncharacterized LOC100295004 |
| LOC100295702 | XM_002703048.2 | Uncharacterized LOC100295702 |
| LOC100295764 | XM_002695637.1 | WD repeat and SOCS box-containing 1-like |
| LOC100295797 | XM_002688997.1 | Uncharacterized LOC100295797 |
| LOC100296900 | XM_002686768.2 | Uncharacterized LOC100296900 |
| LOC100297236 | XM_002691525.1 | Uncharacterized LOC100297236 |
| LOC100300510 | XM_002687093.2 | Uncharacterized LOC100300510 |
| LOC100335321 | XM_002701023.1 | Uncharacterized LOC100335321 |
| LOC100335340 | XM_002706739.1 | Uncharacterized LOC100335340 |
| LOC100335960 | XM_002706103.2 | Uncharacterized LOC100335960 |
| LOC100336391 | XM_002690899.1 | Protease-like |
| LOC100337056 | XM_003584729.1 | Aldo-keto reductase family 1, member C3 (3-alpha hydroxysteroid dehydrogenase, type II)-like |
| LOC100337066 | XM_002687981.1 | Wingless-type MMTV integration site family, member 7B-like |
| LOC100337082 | XM_002690056.1 | Synaptosomal-associated protein, 91kda homolog-like |
| LOC100337145 | XM_002697031.1 | Hyaluronidase-1-like |
| LOC100337259 | XM_002696664.1 | Calcium and integrin binding family member 2-like |

| | | |
|--------------|--------------------|---|
| LOC100847397 | XM_003588108.1 | Interferon-activable protein 204-like |
| LOC100847398 | XM_003584332.1 | Zinc finger protein 81-like |
| LOC100847670 | XM_003582201.1 | Uncharacterized LOC100847670 |
| LOC100847780 | XR_139671.1 | Uncharacterized LOC100847780 |
| LOC100847844 | XR_138876.1 | Uncharacterized LOC100847844 |
| LOC100848000 | XM_003588149.1 | Uncharacterized LOC100848000 |
| LOC100848025 | XM_003586680.1 | Uncharacterized LOC100848025 |
| LOC100848095 | XM_003582283.1 | Neuronal pentraxin receptor-like |
| LOC100848342 | XM_003586497.1 | Uncharacterized LOC100848342 |
| LOC100848658 | XM_003582386.1 | Interferon-activable protein 204-like |
| LOC100848750 | XM_003585929.1 | UDP-glucuronosyltransferase 1-3-like |
| LOC100848855 | XM_003582238.1 | Uncharacterized LOC100848855 |
| LOC100848919 | XM_003583061.1 | Uncharacterized LOC100848919 |
| LOC100849016 | XM_003588006.1 | Ankyrin repeat domain-containing protein 26-like |
| LOC100849417 | XM_003583091.1 | Beta,beta-carotene 9',10'-oxygenase-like |
| LOC100849501 | XM_003582627.1 | Uronyl 2-sulfotransferase-like |
| LOC100849557 | XM_003585419.1 | Bifunctional protease/dutpase-like |
| LOC100850735 | XM_003583644.1 | Phosphoribosyl pyrophosphate synthase-associated protein 1-like |
| LOC100851150 | XM_003585030.1 | Transmembrane protein 131-like |
| LOC100851864 | XM_003583773.1 | Creatine kinase B-type-like |
| LOC100852066 | XR_139182.1 | Uncharacterized LOC100852066 |
| LOC100852121 | XM_003584952.1 | Olfactory receptor 5B12-like |
| LOC100852185 | XM_003582841.1 | Globoside alpha-1,3-N-acetylgalactosaminyltransferase 1-like |
| LOC100852235 | XM_003585513.1 | Uncharacterized LOC100852235 |
| LOC104975830 | XM_010819210.1 | Zymogen granule protein 16 homolog B-like |
| LOC504861 | XM_002695344.2 | Solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 3-like |
| LOC507055 | XM_001788604.3 | Guanylate binding protein 4-like |
| LOC511617 | NM_001080260.1 | Gtpase, IMAP family member 5-like |
| LOC512251 | XM_003585805.1 | Heat shock protein beta-7-like |
| LOC512869 | XM_002707766.1 | Ring finger protein 213-like |
| LOC515128 | XM_003587042.1 | Major facilitator superfamily domain-containing protein 4-like |
| LOC515150 | XM_593120.5 | Complement component 4 binding protein, alpha-like |
| LOC523292 | XM_003586284.1 | Uncharacterized LOC523292 |
| LOC523454 | XR_084729.2 | Protein WWC3-like |
| LOC527711 | XM_003582733.1 | Spectrin beta chain, erythrocyte-like |
| LOC527882 | ENSBTAT00000028173 | Uncharacterized protein |
| LOC530077 | ENSBTAT00000053242 | Uncharacterized protein |
| LOC540321 | XM_593156.5 | Mast cell protease 2-like |
| LOC613282 | XM_003587037.1 | Beta-galactosidase-1-like protein 2-like |
| LOC613880 | XR_813622.1 | Ribonuclease UK114 pseudogene |
| LOC613965 | XM_865225.1 | HRAS-like suppressor 2-like |
| LOC614950 | NM_001078047.1 | T-cell receptor beta chain C region |
| LOC615162 | XM_003583796.1 | Protein FAM198A-like |
| LOC616690 | XM_868782.5 | Acp1 protein-like |
| LOC617281 | NM_001105005.1 | T-cell receptor beta chain variable region |
| LOC781685 | XR_813447.1 | Heat-responsive protein 12 pseudogene |

| | | |
|-----------|--------------------|---|
| LOC781710 | ENSBTAT00000056121 | Uncharacterized protein |
| LOC781772 | ENSBTAT00000023860 | Uncharacterized protein |
| LOC782367 | XM_001251012.4 | Cd1d molecule-like |
| LOC782395 | XM_003584164.1 | Malignant fibrous histiocytoma-amplified sequence 1-like |
| LOC782977 | XM_002704529.1 | Uncharacterized LOC782977 |
| LOC783065 | XM_003585088.1 | Methylcrotonoyl-coa carboxylase beta chain, mitochondrial-like |
| LOC783608 | XR_082740.2 | Glycine cleavage system H protein, mitochondrial-like |
| LOC784182 | NM_001105015.1 | T-cell receptor beta |
| LOC784623 | XM_001252881.1 | Uncharacterized LOC784623 |
| LOC786372 | XM_002686240.1 | Uncharacterized LOC786372 |
| LOC786460 | XM_001254125.1 | Interferon-induced guanylate-binding protein 1-like |
| LOC786550 | XR_083548.1 | Germ cell-less protein-like 1-like |
| LOC786987 | XM_010818402.1 | Protein c19orf12 homolog |
| LOC787045 | XR_807416.1 | Purine nucleoside phosphorylase pseudogene |
| LOC787063 | XM_001254574.1 | Myosin-X-like |
| LOC787788 | ENSBTAT00000011960 | Uncharacterized protein |
| LOC788476 | XM_001255525.3 | Olfactory receptor, family 5, subfamily D, member 13-like |
| LOC788602 | XR_083124.1 | Nuclear pore complex protein Nup88-like |
| LOC790312 | XM_002690745.2 | Purine nucleoside phosphorylase-like |
| LRP8 | NM_001097565.1 | Low density lipoprotein receptor-related protein 8, apolipoprotein e receptor |
| LRR3 | NM_001098884.1 | Leucine rich repeat containing 3 |
| LRRN2 | NM_001076971.1 | Leucine rich repeat neuronal 2 |
| LSAMP | NM_001205368.1 | Neuronal growth regulator 1-like |
| LY6D | XM_001253695.2 | Lymphocyte antigen 6D-like |
| LYZ | NM_001078159.1 | Lysozyme |
| MACF1 | NM_001143860.1 | Microtubule-actin crosslinking factor 1 |
| MCF2L | XM_002691997.2 | MCF.2 cell line derived transforming sequence-like |
| MCOLN2 | NM_001192734.1 | Mucolipin 2 |
| MESP2 | XM_002696577.1 | Mesoderm posterior 2 homolog (mouse) |
| METAP1 | NM_001102037.1 | Methionyl aminopeptidase 1 |
| MGC142702 | NM_001076813.2 | Uncharacterized LOC507581 |
| MGLL | NM_001206681.1 | Monoglyceride lipase |
| MIC2 | XM_002697324.2 | CD99 molecule |
| MOGAT1 | NM_001001153.2 | Monoacylglycerol O-acyltransferase 1 |
| MYO1A | NM_174395.2 | Myosin IA |
| MYO1B | NM_001102199.1 | Myosin IB |
| NAALAD2 | NM_001192880.1 | N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase 2 |
| NBL1 | ENSBTAT00000006779 | Neuroblastoma, suppression of tumorigenicity 1 |
| NCAM1 | NM_174399.1 | Neural cell adhesion molecule 1 |
| NDRG1 | NM_001035009.1 | N-myc downstream regulated 1 |
| NEFH | XM_002694606.1 | Neurofilament, heavy polypeptide |
| NFKBIA | NM_001045868.1 | Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha |
| NID1 | NM_001101155.1 | Nidogen 1 |
| NLRC3 | XM_584462.5 | NLR family, CARD domain containing 3 |
| NROB1 | NM_001205857.1 | Nuclear receptor subfamily 0, group B, member 1 |

| | | |
|----------|----------------|---|
| NSG1 | NM_001077957.1 | Neuron specific gene family member 1 |
| NUDT5 | NM_001076314.1 | Nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 5 |
| NUP88 | NM_001034222.1 | Nucleoporin 88kda |
| NUPR1 | NM_001114515.1 | Nuclear protein, transcriptional regulator, 1 |
| NXNL2 | NM_001192693.1 | Nucleoredoxin-like 2 |
| NXT2 | NM_001100353.1 | Nuclear transport factor 2-like export factor 2 |
| OAF | XM_592427.3 | OAF homolog (Drosophila) |
| OGDH | NM_001076030.1 | Oxoglutarate (alpha-ketoglutarate) dehydrogenase (lipoamide) |
| OR6S1 | XM_002690658.1 | Olfactory receptor, family 6, subfamily S, member 1 |
| OSBPL8 | XM_002704211.2 | Oxysterol binding protein-like 8 |
| OXCT1 | NM_001076070.1 | 3-oxoacid coa transferase 1 |
| PACSN3 | NM_001191420.1 | Protein kinase C and casein kinase substrate in neurons 3 |
| PALLD | XM_002689443.2 | Palladin, cytoskeletal associated protein |
| PDE6H | NM_174422.2 | Phosphodiesterase 6H, cgmp-specific, cone, gamma |
| PECR | XM_869212.5 | Peroxisomal trans-2-enoyl-coa reductase |
| PEPD | NM_001080318.2 | Peptidase D |
| PIM3 | XM_002688010.2 | Pim-3 oncogene |
| PITX2 | NM_001097991.1 | Paired-like homeodomain 2 |
| PLA2G16 | NM_001075280.1 | Phospholipase A2, group XVI |
| PLAGL1 | NM_001103289.1 | Pleiomorphic adenoma gene-like 1 |
| PLAT | NM_174146.3 | Plasminogen activator, tissue |
| PLCD4 | NM_001046489.1 | Phospholipase C, delta 4 |
| PLD1 | NM_001102001.1 | Phospholipase D1, phosphatidylcholine-specific |
| PLIN2 | NM_173980.2 | Perilipin 2 |
| PM20D1 | NM_001038100.1 | Peptidase M20 domain containing 1 |
| PNMT | NM_177505.3 | Phenylethanolamine N-methyltransferase |
| PNP | NM_001007818.1 | Purine nucleoside phosphorylase |
| POLE2 | NM_001105383.1 | Polymerase (DNA directed), epsilon 2 (p59 subunit) |
| PPM1H | NM_001193049.1 | Protein phosphatase, Mg ²⁺ /Mn ²⁺ dependent, 1H |
| PPP1R14A | NM_001193070.1 | Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 14A |
| PPP1R1B | NM_174647.2 | Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 1B |
| PROZ | NM_001078083.1 | Protein Z, vitamin K-dependent plasma glycoprotein |
| PRPSAP1 | NM_001076857.1 | Phosphoribosyl pyrophosphate synthetase-associated protein 1 |
| PTGDS | NM_174791.3 | Prostaglandin D2 synthase 21kda (brain) |
| PTGIS | NM_174444.1 | Prostaglandin I2 (prostacyclin) synthase |
| PTPRJ | XM_003587017.1 | Protein tyrosine phosphatase, receptor type, J |
| RDH16 | NM_001075796.1 | Retinol dehydrogenase 16 (all-trans) |
| REBK1 | NM_001245951.1 | RNA export protein-like protein of BERV-K1 |
| REEP1 | NM_001082461.1 | Receptor accessory protein 1 |
| RET | NM_001191483.1 | Ret proto-oncogene |
| RFFL | XM_002695631.1 | Ring finger and FYVE-like domain containing 1 |
| RGS14 | NM_001192731.1 | Regulator of G-protein signaling 14 |
| RHBDF2 | XM_002696165.1 | Rhomboid 5 homolog 2 (Drosophila) |
| RHOBTB3 | XM_609411.5 | Rho-related BTB domain containing 3 |
| RNASE12 | XM_002690743.1 | Ribonuclease, rnase A family, 12 (non-active) |
| RNASE6 | NM_174594.2 | Ribonuclease, rnase A family, k6 |

| | | |
|----------|--------------------|---|
| RNF122 | NM_001101920.1 | Ring finger protein 122 |
| RNF175 | NM_001193184.1 | Ring finger protein 175 |
| RNF185 | NM_001083703.1 | Ring finger protein 185 |
| RNF34 | NM_001014858.1 | Ring finger protein 34 |
| RPAIN | NM_001076500.1 | RPA interacting protein |
| RPRM | NM_001080739.1 | Reprimo, TP53 dependent G2 arrest mediator candidate |
| RSPRY1 | NM_001083734.1 | Ring finger and SPRY domain containing 1 |
| RTP4 | NM_001075961.1 | Receptor (chemosensory) transporter protein 4 |
| RUNX2 | XM_002697262.1 | Runt-related transcription factor 2 |
| RWDD4 | NM_001076824.1 | RWD domain containing 4 |
| SBSPON | NM_001075869.1 | Somatomedin B and thrombospondin, type 1 domain containing |
| SCNN1B | NM_001098075.1 | Sodium channel, nonvoltage-gated 1, beta |
| SCUBE2 | XM_002693059.2 | Signal peptide, CUB domain, EGF-like 2 |
| SDS | NM_001075662.1 | Serine dehydratase |
| SECTM1 | NM_001102326.1 | Secreted and transmembrane 1 |
| Sectm1a | ENSBTAT00000056556 | Uncharacterized protein |
| SEMA6C | XM_002684071.2 | Sema domain, transmembrane domain (TM), and cytoplasmic domain, (semaphorin) 6C |
| SEMA6D | NM_001191133.1 | Sema domain, transmembrane domain (TM), and cytoplasmic domain, (semaphorin) 6D |
| SEPP1 | NM_174459.3 | Selenoprotein P, plasma, 1 |
| SEPT4 | NM_001034651.1 | Septin 4 |
| SERPINA5 | NM_176646.2 | Serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 5 |
| SFRP5 | NM_174461.2 | Secreted frizzled-related protein 5 |
| SFTA2 | NM_001114523.1 | Surfactant associated 2 |
| SH2D1A | NM_001034733.1 | SH2 domain containing 1A |
| SH3D19 | XM_002694318.2 | SH3 domain containing 19 |
| SIK1 | ENSBTAT00000015200 | Salt-inducible kinase 1 |
| SIX1 | ENSBTAT00000016104 | SIX1 protein; Uncharacterized protein |
| SLAMF1 | NM_174184.3 | Signaling lymphocytic activation molecule family member 1 |
| SLAMF7 | NM_001191358.1 | SLAM family member 7 |
| SLC16A11 | XM_001790274.3 | Solute carrier family 16, member 11 (monocarboxylic acid transporter 11) |
| SLC16A13 | NM_001076132.1 | Solute carrier family 16, member 13 (monocarboxylic acid transporter 13) |
| SLC16A6 | NM_001192672.1 | Solute carrier family 16, member 6 (monocarboxylic acid transporter 7) |
| SLC18A2 | NM_174653.2 | Solute carrier family 18 (vesicular monoamine), member 2 |
| SLC1A1 | NM_174599.2 | Solute carrier family 1 (neuronal/epithelial high affinity glutamate transporter, system Xag), member 1 |
| SLC29A2 | NM_001103269.1 | Solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 2 |
| SLC38A1 | XM_002687321.1 | Solute carrier family 38, member 1 |
| SLC38A7 | NM_001100355.1 | Solute carrier family 38, member 7 |
| SLC44A2 | NM_001098139.1 | Solute carrier family 44, member 2 |
| SLC9A9 | NM_001076068.1 | Solute carrier family 9, subfamily A (NHE9, cation proton antiporter 9), member 9 |
| SMARCE1 | NM_001099116.1 | SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily e, member 1 |
| SMOX | NM_001205439.1 | Spermine oxidase |
| SNAP91 | NM_001105378.1 | Synaptosomal-associated protein, 91kda homolog (mouse) |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| SNORA35 | ENSBTAT00000060880 | Small nucleolar RNA SNORA35 |
| SNX20 | NM_001038033.1 | Sorting nexin 20 |
| SNX8 | NM_001046533.1 | Sorting nexin 8 |
| SPDYC | XM_002699389.1 | Speedy homolog C (<i>Xenopus laevis</i>) |
| SPPL3 | XM_615162.4 | Signal peptide peptidase-like 3 |
| SPRY1 | NM_001099366.1 | Sprouty homolog 1, antagonist of FGF signaling (<i>Drosophila</i>) |
| SRPK3 | NM_001083390.1 | SRSF protein kinase 3 |
| SRPX | NM_001040489.1 | Sushi-repeat containing protein, X-linked |
| STAG3 | NM_001192411.2 | Stromal antigen 3 |
| STK32C | XM_002698604.1 | Serine/threonine kinase 32C |
| STON1 | NM_001204851.1 | Stonin 1 |
| SULT1A1 | NM_177521.2 | Sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 1 |
| SUN2 | NM_001102319.1 | Sad1 and UNC84 domain containing 2 |
| TCF20 | NM_001192574.1 | Transcription factor 20 (AR1) |
| TCRA | NM_001075519.1 | T cell receptor, alpha |
| TDRKH | NM_001105375.1 | Tudor and KH domain containing |
| TFDP2 | NM_001075241.1 | Transcription factor Dp-2 (E2F dimerization partner 2) |
| TKTL1 | NM_001045972.1 | Transketolase-like 1 |
| TLE4 | NM_001081583.1 | Transducin-like enhancer of split 4 (E(sp1) homolog, <i>Drosophila</i>) |
| TLR2 | NM_174197.2 | Toll-like receptor 2 |
| TM7SF2 | NM_174622.3 | Transmembrane 7 superfamily member 2 |
| TMEM141 | NM_001034462.1 | Transmembrane protein 141 |
| TMEM156 | NM_001083469.1 | Transmembrane protein 156 |
| TMEM210 | ENSBTAT00000065269 | Transmembrane protein 210 |
| TMEM229B | NM_001031768.2 | Transmembrane protein 229B |
| TMEM35 | NM_001014940.1 | Transmembrane protein 35 |
| TMEM51 | NM_001098975.1 | Transmembrane protein 51 |
| TMEM64 | XM_616966.5 | Transmembrane protein 64 |
| TMEM79 | NM_001014920.1 | Transmembrane protein 79 |
| TMTC1 | NM_001192761.1 | Transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 1 |
| TNFRSF6B | NM_001101306.1 | Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6b, decoy |
| TNNT1 | NM_174474.1 | Troponin T type 1 (skeletal, slow) |
| TOX | NM_001102096.1 | Thymocyte selection-associated high mobility group box |
| TRAC | ENSBTAT00000000555 | T cell receptor alpha constant |
| TRPM3 | NM_001076236.1 | Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 3 |
| TTPA | NM_001206676.1 | Tocopherol (alpha) transfer protein |
| TUBB3 | NM_001077127.1 | Tubulin, beta 3 class III |
| U6 | ENSBTAT00000059773 | U6 spliceosomal RNA |
| UBAP2 | NM_001191276.2 | Ubiquitin associated protein 2 |
| UBD | NM_001206473.1 | Ubiquitin D |
| UPK1B | NM_174482.2 | Uroplakin 1B |
| USP31 | XM_002698023.1 | Ubiquitin specific peptidase 48 |
| UST | NM_001206827.1 | Uronyl-2-sulfotransferase |
| VIL1 | NM_001013591.1 | Villin 1 |
| VLDLR | NM_174489.2 | Very low density lipoprotein receptor |
| VSIG4 | NM_001046529.1 | V-set and immunoglobulin domain containing 4 |

| | | |
|--------|----------------|--|
| WNK2 | XM_002689849.2 | WNK lysine deficient protein kinase 2 |
| YEATS2 | NM_001105367.1 | YEATS domain containing 2 |
| ZAP70 | NM_001193017.1 | Zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kda |
| ZCWPW1 | NM_001076853.1 | Zinc finger, CW type with PWWP domain 1 |
| ZNF483 | NM_001105423.1 | Zinc finger protein 483 |

Anexo V Listado de genes agrupados (SOTA4)

| Símbolo oficial | Acceso | Nombre |
|-----------------|----------------|---|
| ABP1 | NM_001034361.1 | Amiloride binding protein 1 (amine oxidase (copper-containing)) |
| ACTG2 | NM_001013592.1 | Actin, gamma 2, smooth muscle, enteric |
| ADCY7 | NM_174230.2 | Adenylate cyclase 7 |
| AFF2 | NM_001191543.1 | AF4/FMR2 family, member 2 |
| AKR1C3 | XM_002692184.1 | Aldo-keto reductase family 1, member C1 |
| AMIGO2 | NM_001205786.1 | Adhesion molecule with Ig-like domain 2 |
| APOL3 | NM_001100297.1 | Apolipoprotein L, 3 |
| ARG2 | NM_001017942.1 | Arginase, type II |
| BGN | NM_178318.3 | Biglycan |
| BLNK | NM_001046054.1 | B-cell linker |
| BMP4 | NM_001045877.1 | Bone morphogenetic protein 4 |
| C16H1orf95 | NM_001083770.1 | Chromosome 16 open reading frame, human c1orf95 |
| C18H16orf74 | XM_002694752.1 | Chromosome 18 open reading frame, human c16orf74 |
| C1QA | NM_001014945.1 | Complement component 1, q subcomponent, A chain |
| C4H7orf41 | NM_001101246.1 | Chromosome 4 open reading frame, human c7orf41 |
| CAV1 | NM_174004.3 | Caveolin 1, caveolae protein, 22kda |
| CDCA7 | NM_001037488.1 | Cell division cycle associated 7 |
| CDH17 | NM_001098902.1 | Cadherin 17, LI cadherin (liver-intestine) |
| CH25H | NM_001075243.1 | Cholesterol 25-hydroxylase |
| CLDN8 | NM_001098096.1 | Claudin 8 |
| CLEC14A | NM_001077890.1 | C-type lectin domain family 14, member A |
| CNRIP1 | NM_001076183.1 | Cannabinoid receptor interacting protein 1 |
| COL4A4 | XM_003585388.1 | Collagen, type IV, alpha 4 |
| CTGF | NM_174030.2 | Connective tissue growth factor |
| DIO2 | NM_001010992.3 | Deiodinase, iodothyronine, type II |
| DPEP2 | XM_002694905.1 | Dipeptidase 2 |
| EDNRA | NM_174308.2 | Endothelin receptor type A |
| EMCN | NM_001076420.1 | Endomucin |
| ENPP5 | NM_001206724.1 | Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 5 (putative) |
| FAM105A | NM_001102171.1 | Family with sequence similarity 105, member A |
| FGF18 | NM_001076007.1 | Fibroblast growth factor 18 |
| FHOD1 | NM_001206339.1 | Formin homology 2 domain containing 1 |
| FOLR1 | NM_001206532.1 | Folate receptor 1 (adult) |
| FOS | NM_182786.2 | FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog |
| FZD5 | XM_002685540.2 | Frizzled family receptor 5 |
| GIMAP5 | NM_001079769.1 | Gtpase, IMAP family member 5 |
| GPAT2 | NM_001192634.1 | Glycerol-3-phosphate acyltransferase 2, mitochondrial |

| | | |
|--------------|--------------------|---|
| HERC5 | NM_001101995.1 | Hect domain and RLD 5 |
| HOXA7 | XM_867772.3 | Homeobox A7 |
| IFFO1 | NM_001083380.1 | Intermediate filament family orphan 1 |
| IGFBP3 | NM_174556.1 | Insulin-like growth factor binding protein 3 |
| IL17RB | ENSBTAT00000014846 | Interleukin-17 receptor B |
| ILVBL | NM_001015535.1 | Ilvb (bacterial acetolactate synthase)-like |
| ITGB3 | NM_001206490.1 | Integrin, beta 3 (platelet glycoprotein iiiia, antigen CD61) |
| ITPR1PL1 | XM_002691135.1 | Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor interacting protein-like 1 |
| LOC100139161 | XM_003586489.1 | T-lymphoma invasion and metastasis-inducing protein 2-like |
| LOC100300483 | XM_002691364.1 | Antimicrobial peptide NK-lysin-like |
| LOC100337056 | XM_003585083.1 | Aldo-keto reductase family 1, member C3 (3-alpha hydroxysteroid dehydrogenase, type II)-like |
| LOC100847844 | XR_139493.1 | Uncharacterized LOC100847844 |
| LOC100848596 | XM_003587151.1 | Uncharacterized LOC100848596 |
| LOC100850470 | XM_003582783.1 | Antimicrobial peptide NK-lysin-like |
| LOC515150 | XM_002693873.2 | Complement component 4 binding protein, alpha-like |
| LOC532205 | XM_010811349.1 | Dihydrodiol dehydrogenase 3-like |
| LOC538060 | NM_001206787.1 | Aldo-keto reductase family 1, member C1 (dihydrodiol dehydrogenase 1; 20-alpha (3-alpha)-hydroxysteroid dehydrogenase)-like |
| LOC618369 | XM_003582287.1 | Lactosylceramide 4-alpha-galactosyltransferase-like |
| LOC768255 | NM_001078121.1 | Gtpase, IMAP family member 4-like |
| LOC782061 | NM_001166223.1 | Aldo-keto reductase family 1, member C1-like |
| LOC785996 | XM_003585603.1 | Putative aldo-keto reductase family 1 member C1-like |
| LOC788927 | XM_003582986.1 | EMILIN-3-like |
| LY6G6C | NM_001077856.1 | Lymphocyte antigen 6 complex, locus G6C |
| MAFF | NM_001103300.1 | V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian) |
| MATK | NM_001035011.1 | Megakaryocyte-associated tyrosine kinase |
| MCTP2 | XM_003583719.1 | Multiple C2 domains, transmembrane 2 |
| MMP11 | XM_002694692.1 | Matrix metalloproteinase 11 (stromelysin 3) |
| MOCOS | NM_174081.2 | Molybdenum cofactor sulfuryase |
| NFATC4 | NM_001102536.1 | Nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic, calcineurin-dependent 4 |
| NOSTRIN | NM_001046257.1 | Nitric oxide synthase trafficker |
| PCDH18 | NM_001102229.1 | Protocadherin 18 |
| PDE2A | NM_001256273.1 | Phosphodiesterase 2A, cgmp-stimulated |
| PLAC8 | NM_001076987.1 | Placenta-specific 8 |
| PRR16 | XM_002688993.2 | Proline rich 16 |
| PTGS2 | NM_174445.2 | Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase) |
| PTX3 | NM_001076259.1 | Pentraxin 3, long |
| RUNDC3B | NM_001076874.1 | RUN domain containing 3B |
| SAT1 | NM_001034333.1 | Spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1 |
| SCD5 | NM_001076945.1 | Stearoyl-coa desaturase 5 |
| SEL1L3 | NM_001206556.2 | Sel-1 suppressor of lin-12-like 3 (C. Elegans) |
| SIGLEC10 | NM_001206277.1 | Sialic acid binding Ig-like lectin 10 |
| SLC13A5 | NM_001191446.1 | Solute carrier family 13 (sodium-dependent citrate transporter), member 5 |

| | | |
|----------|--------------------|--|
| SLC22A3 | XM_002690372.2 | Solute carrier family 22 (extraneuronal monoamine transporter), member 3 |
| SLC2A5 | NM_001101042.1 | Solute carrier family 2 (facilitated glucose/fructose transporter), member 5 |
| SMPDL3B | NM_001100379.1 | Sphingomyelin phosphodiesterase, acid-like 3B |
| SNORD113 | ENSBTAT00000059500 | Small nucleolar RNA SNORD113/SNORD114 family |
| SPARC | NM_174464.2 | Secreted protein, acidic, cysteine-rich (osteonectin) |
| SPTBN2 | ENSBTAT00000007787 | Spectrin, beta, non-erythrocytic 2 |
| STMN2 | NM_001034622.1 | Stathmin-like 2 |
| STYK1 | NM_001143868.1 | Serine/threonine/tyrosine kinase 1 |
| TLE1 | NM_001098020.1 | Transducin-like enhancer of split 1 (E(sp1) homolog, Drosophila) |
| TMEM106A | NM_001014870.2 | Transmembrane protein 106A |
| TMEM178 | NM_001192028.1 | Transmembrane protein 178 |
| TRIB1 | NM_001101105.1 | Tribbles homolog 1 (Drosophila) |
| TXNRD1 | NM_174625.3 | Thioredoxin reductase 1 |
| ULBP3 | NM_001103233.1 | UL16 binding protein 3 |
| USHBP1 | NM_001077137.1 | Usher syndrome 1C binding protein 1 |
| VCAM1 | NM_174484.1 | Vascular cell adhesion molecule 1 |
| VGLL1 | XM_002699589.1 | Vestigial like 1 (Drosophila) |
| ZBTB16 | NM_001037476.1 | Zinc finger and BTB domain containing 16 |

Anexo VI Listado de genes agrupados (SOTA5)

| Símbolo oficial | Acceso | Nombre |
|-----------------|--------------------|---|
| COL2A1 | NM_001001135.2 | Collagen, type II, alpha 1 |
| CPE | NM_173903.3 | Carboxypeptidase E |
| FABP3 | NM_174313.2 | Fatty acid binding protein 3, muscle and heart (mammary-derived growth inhibitor) |
| FST | NM_175801.2 | Follistatin |
| GDF10 | NM_001076167.1 | Growth differentiation factor 10 |
| GRP | NM_001101239.1 | Gastrin-releasing peptide |
| HPGD | NM_001034419.1 | Hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD) |
| IFI27 | ENSBTAT00000004093 | Interferon alpha-inducible protein 27 |
| LOC100847618 | XR_139598.1 | Uncharacterized LOC100847618 |
| LOC100851446 | XM_003583032.1 | Proenkephalin-A-like |
| LOC526200 | XM_003582606.1 | Absent in melanoma 1 protein-like |
| LOC783399 | XM_002689933.1 | Major allergen Equ c 1-like |
| LOC787414 | XM_001254250.3 | Chloride channel protein clc-Ka-like |
| LRP2 | XM_002685308.2 | Low density lipoprotein receptor-related protein 2 |
| MGP | NM_174707.2 | Matrix Gla protein |
| PDZK1 | NM_001034611.1 | PDZ domain containing 1 |
| PENK | NM_174141.2 | Proenkephalin |
| SCARA5 | NM_001102499.1 | Scavenger receptor class A, member 5 (putative) |
| SCUBE2 | XM_003583105.1 | Signal peptide, CUB domain, EGF-like 2 |
| THY1 | NM_001034765.1 | Thy-1 cell surface antigen |
| UNC93A | NM_001082457.1 | Unc-93 homolog A (C. Elegans) |

Anexo VII Listado de genes agrupados (SOTA6)

| Símbolo oficial | Acceso | Nombre |
|-----------------|--------------------|--|
| ACSL4 | XM_865924.4 | Acyl-coa synthetase long-chain family member 4 |
| AKAP6 | NM_001192923.1 | A kinase (PRKA) anchor protein 6 |
| AKR1C4 | NM_181027.2 | Aldo-keto reductase family 1, member C4 (chlordecone reductase; 3-alpha hydroxysteroid dehydrogenase, type I; dihydrodiol dehydrogenase 4) |
| CCNB1 | NM_001045872.1 | Cyclin B1 |
| CHRD1 | XM_592894.6 | Chordin-like 1 |
| CHST2 | NM_001113769.1 | Carbohydrate (N-acetylglucosamine-6-O) sulfotransferase 2 |
| CLCNKA | XM_618340.5 | Chloride channel Ka |
| COL4A3 | NM_001166529.1 | Collagen, type IV, alpha 3 (Goodpasture antigen) |
| CPN1 | NM_001076080.1 | Carboxypeptidase N, polypeptide 1 |
| CYP2C18 | NM_001076051.1 | Cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 18 |
| DGAT2 | NM_205793.2 | Diacylglycerol O-acyltransferase 2 |
| DGKA | NM_001077860.1 | Diacylglycerol kinase, alpha 80kda |
| DRAM1 | NM_001031767.2 | DNA-damage regulated autophagy modulator 1 |
| F2RL3 | NM_001076138.1 | Coagulation factor II (thrombin) receptor-like 3 |
| GJB5 | NM_001205907.1 | Gap junction protein, beta 5, 31.1kda |
| GPR183 | NM_001046472.1 | G protein-coupled receptor 183 |
| ITPR1L1 | XM_002691136.1 | Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor interacting protein-like 1 |
| LOC100336592 | XR_139225.1 | Collagen alpha-4(VI) chain-like |
| LOC100847753 | XR_139607.1 | Uncharacterized LOC100847753 |
| LOC512293 | XR_083278.1 | G2/mitotic-specific cyclin-B1-like |
| LOC515676 | XM_593741.6 | Uncharacterized LOC515676 |
| LOC521764 | XM_003582972.1 | Myosin-7B-like |
| LOC783399 | XM_003582575.1 | Major allergen Equ c 1-like |
| LRRC26 | XM_002691686.1 | Leucine rich repeat containing 26 |
| MRPS36 | NM_001035438.1 | Mitochondrial ribosomal protein S36 |
| NDRG4 | NM_001075695.1 | NDRG family member 4 |
| NPPC | NM_174125.2 | Natriuretic peptide C |
| OSR1 | NM_001076916.2 | Odd-skipped related 1 (Drosophila) |
| PKP1 | NM_174145.2 | Plakophilin 1 (ectodermal dysplasia/skin fragility syndrome) |
| RTN4RL2 | XM_002693714.2 | Reticulon 4 receptor-like 2 |
| SFRP4 | NM_001075764.1 | Secreted frizzled-related protein 4 |
| SLC31A2 | NM_001034556.1 | Solute carrier family 31 (copper transporters), member 2 |
| SLC39A8 | NM_001205630.1 | Solute carrier family 39 (zinc transporter), member 8 |
| SLC43A3 | NM_001038126.1 | Solute carrier family 43, member 3 |
| SPC24 | NM_001075391.1 | SPC24, NDC80 kinetochore complex component, homolog (S. Cerevisiae) |
| TMIE | NM_001206734.1 | Transmembrane inner ear |
| TTC22 | NM_001098055.1 | Tetratricopeptide repeat domain 22 |
| UNC93A | ENSBTAT00000057059 | Unc-93 homolog A |
| WBSCR17 | NM_001192067.1 | Williams-Beuren syndrome chromosome region 17 |
| WNT11 | NM_001082456.1 | Wingless-type MMTV integration site family, member 11 |

Anexo VIII Genes expresados únicamente por el oviducto en la especie

bovina

| Número de acceso | Símbolo | FC* (log2) | | P-valor | | Media de señal |
|------------------|--------------|------------|----------|----------|----------|----------------|
| | | U_cr/O_a | U_cr/O_i | U_cr/O_a | U_cr/O_i | |
| XM_003585814.2 | OVGP1 | -13.08 | -13.10 | 0.0000 | 0.0000 | 13.23 |
| NM_001083418.1 | LAMP5 | -10.01 | -10.42 | 0.0000 | 0.0000 | 11.09 |
| NM_001205833.1 | AQP9 | -9.26 | -10.16 | 0.0000 | 0.0000 | 11.03 |
| NM_001076202.1 | CYP4B1 | -7.64 | -7.92 | 0.0000 | 0.0000 | 11.01 |
| NM_001033936.1 | CFH | -7.80 | -7.90 | 0.0000 | 0.0000 | 11.71 |
| NM_001205300.1 | PITX1 | -7.48 | -7.78 | 0.0000 | 0.0000 | 9.85 |
| NM_001192643.1 | P2RX2 | -7.75 | -7.50 | 0.0000 | 0.0000 | 11.27 |
| NM_001191160.1 | AQP5 | -6.42 | -6.93 | 0.0000 | 0.0000 | 10.52 |
| NM_001205882.1 | SEC14L3 | -5.55 | -6.77 | 0.0000 | 0.0000 | 10.20 |
| XM_002688235.1 | GABA | -7.10 | -6.74 | 0.0000 | 0.0000 | 8.44 |
| NM_001100374.1 | MSLN | -6.94 | -6.72 | 0.0000 | 0.0000 | 9.05 |
| XM_866224.2 | UTS2D | -5.31 | -6.51 | 0.0000 | 0.0000 | 7.80 |
| XM_002690022.1 | CD109 | -6.19 | -6.36 | 0.0000 | 0.0000 | 12.66 |
| XM_002702097.1 | WFDC18 | -5.08 | -6.30 | 0.0003 | 0.0000 | 9.44 |
| NM_001079621.1 | BNIP1 | -5.80 | -6.27 | 0.0000 | 0.0000 | 10.37 |
| NM_174682.2 | ACSM1 | -6.17 | -6.27 | 0.0000 | 0.0000 | 9.89 |
| NM_001205278.1 | EXPI | -5.00 | -6.23 | 0.0003 | 0.0000 | 9.26 |
| NM_001101935.1 | KRT23 | -5.85 | -6.22 | 0.0000 | 0.0000 | 8.32 |
| NM_001080219.1 | CHI3L1 | -5.96 | -6.15 | 0.0000 | 0.0000 | 9.88 |
| NM_001192898.1 | DGKB | -5.70 | -6.12 | 0.0000 | 0.0000 | 8.12 |
| NM_001206783.1 | PHGR1 | -6.13 | -6.00 | 0.0000 | 0.0000 | 12.04 |
| NM_001080909.1 | STOML3 | -5.56 | -5.94 | 0.0000 | 0.0000 | 9.25 |
| NM_001035464.1 | EYA2 | -5.17 | -5.81 | 0.0000 | 0.0000 | 11.69 |
| XM_002688785.2 | MUC16 | -5.58 | -5.71 | 0.0001 | 0.0001 | 10.55 |
| XM_587457.5 | ATP2C2 | -5.65 | -5.70 | 0.0000 | 0.0000 | 13.04 |
| XM_867937.4 | FAM151A | -5.98 | -5.66 | 0.0000 | 0.0000 | 9.34 |
| NM_001008663.1 | KRT5 | -5.68 | -5.66 | 0.0000 | 0.0000 | 8.01 |
| XM_003587381.1 | LOC100847724 | -4.72 | -5.55 | 0.0000 | 0.0000 | 8.95 |
| NM_001076121.1 | BCL11A | -5.35 | -5.53 | 0.0000 | 0.0000 | 9.02 |
| NM_173877.1 | F2 | -5.57 | -5.48 | 0.0000 | 0.0000 | 10.62 |
| XM_001253283.2 | PDYN | -5.69 | -5.46 | 0.0000 | 0.0000 | 8.67 |
| XM_002684535.2 | MSLNL | -5.72 | -5.45 | 0.0000 | 0.0000 | 8.38 |
| NM_001077034.1 | BEX2 | -5.18 | -5.35 | 0.0000 | 0.0000 | 7.83 |
| XM_002685502.2 | LOC518393 | -4.90 | -5.30 | 0.0000 | 0.0000 | 8.04 |
| XM_614095.6 | FCGBP | -4.92 | -5.29 | 0.0000 | 0.0000 | 12.43 |
| XM_001255698.3 | KRT9 | -5.23 | -5.29 | 0.0000 | 0.0000 | 10.66 |
| NM_001102054.1 | SERPINI2 | -5.91 | -5.19 | 0.0000 | 0.0000 | 8.33 |
| NM_001101980.1 | COL17A1 | -4.73 | -5.17 | 0.0000 | 0.0000 | 7.42 |
| NM_001102210.1 | NWD1 | -4.49 | -5.01 | 0.0000 | 0.0000 | 8.04 |
| XM_002699995.1 | LOC519208 | -5.48 | -4.98 | 0.0000 | 0.0000 | 7.76 |
| XM_002688413.2 | PPP2R2C | -4.68 | -4.92 | 0.0000 | 0.0000 | 10.13 |
| XM_002696055.1 | RPRML | -4.62 | -4.89 | 0.0000 | 0.0000 | 8.32 |
| XM_003585238.1 | PI3 | -5.13 | -4.85 | 0.0000 | 0.0000 | 11.15 |
| XM_003582989.1 | BTRAPPIN-5 | -5.02 | -4.84 | 0.0000 | 0.0000 | 11.00 |
| NM_173883.2 | TG | -4.35 | -4.80 | 0.0000 | 0.0000 | 8.41 |
| XM_003585390.1 | BTRAPPIN-4 | -5.08 | -4.75 | 0.0000 | 0.0000 | 11.00 |
| XM_865147.1 | ATP6V1G3 | -4.63 | -4.55 | 0.0000 | 0.0000 | 11.10 |
| XR_138891.1 | LOC100848261 | -4.64 | -4.52 | 0.0000 | 0.0000 | 9.50 |
| NM_001102110.1 | CTNNA2 | -4.92 | -4.47 | 0.0000 | 0.0000 | 7.19 |
| NM_001075923.1 | ENPP3 | -4.42 | -4.40 | 0.0000 | 0.0000 | 11.14 |
| NM_174129.3 | NT5E | -4.49 | -4.30 | 0.0000 | 0.0000 | 9.32 |
| XM_003583102.1 | LOC514824 | -4.32 | -4.29 | 0.0000 | 0.0000 | 8.04 |
| NM_001206968.1 | OTUD7A | -4.51 | -4.28 | 0.0000 | 0.0000 | 6.67 |
| NM_001078022.1 | GJA5 | -4.60 | -4.27 | 0.0000 | 0.0000 | 10.62 |
| NM_001101050.1 | UPB1 | -4.32 | -4.25 | 0.0000 | 0.0000 | 7.35 |

| | | | | | | |
|----------------|--------------|-------|-------|--------|--------|-------|
| XM_605496.4 | CORIN | -4.28 | -4.24 | 0.0000 | 0.0000 | 6.66 |
| NM_001206903.1 | SLC6A11 | -4.11 | -4.21 | 0.0000 | 0.0000 | 6.39 |
| XM_003582232.1 | LOC100847954 | -4.08 | -4.09 | 0.0000 | 0.0000 | 7.95 |
| XM_615728.5 | SLC9A10 | -4.85 | -4.06 | 0.0000 | 0.0000 | 7.53 |
| XM_002690855.2 | ALDH1A2 | -4.49 | -4.02 | 0.0000 | 0.0000 | 11.41 |
| NM_001205610.1 | ABCC8 | -4.90 | -4.00 | 0.0000 | 0.0000 | 10.43 |

*fold change

Anexo IX Genes expresados únicamente por el endometrio en la especie bovina

| Número de acceso | Símbolo | FC*(log2) U_cr/O_a | FC* (log2) U_cr/O_i | P-valor U_cr/O_a | P-valor U_cr/O_i | Media de señal |
|-------------------|--------------|-----------------------|------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|
| NM_001076831.1 | COL3A1 | 10.81 | 10.23 | 0.0000 | 0.0000 | 7.99 |
| NM_174257.2 | S100G | 10.62 | 10.04 | 0.0000 | 0.0000 | 7.96 |
| XM_002686854.2 | HOXA11 | 9.46 | 9.19 | 0.0000 | 0.0000 | 6.14 |
| NM_001101239.1 | GRP | 9.34 | 5.29 | 0.0000 | 0.0000 | 11.10 |
| NM_174520.2 | COL1A2 | 9.22 | 9.05 | 0.0000 | 0.0000 | 7.11 |
| NM_001143865.1 | COL6A1 | 9.10 | 8.46 | 0.0000 | 0.0000 | 9.82 |
| NM_205786.1 | PTI | 8.71 | 7.94 | 0.0000 | 0.0000 | 6.35 |
| NM_001105017.1 | HOXA10 | 8.49 | 8.26 | 0.0000 | 0.0000 | 5.94 |
| NM_001192114.1 | GATA2 | 8.42 | 8.36 | 0.0000 | 0.0000 | 6.74 |
| NM_001001598.1 | P4HA3 | 8.41 | 8.35 | 0.0000 | 0.0000 | 6.03 |
| NM_001105636.1 | UGT1A1 | 8.29 | 6.98 | 0.0000 | 0.0000 | 6.81 |
| NR_037684.1 | MEG3 | 8.24 | 8.03 | 0.0000 | 0.0000 | 6.24 |
| XM_597117.5 | LAMC3 | 7.88 | 7.95 | 0.0000 | 0.0000 | 6.38 |
| NM_001080358.1 | TDGF1 | 7.87 | 7.50 | 0.0000 | 0.0000 | 7.77 |
| NM_001083664.1 | TMEM119 | 7.85 | 7.57 | 0.0000 | 0.0000 | 5.60 |
| NM_173934.1 | LUM | 7.81 | 7.79 | 0.0000 | 0.0000 | 6.05 |
| XM_003584958.1 | HTRA3 | 7.76 | 7.36 | 0.0000 | 0.0000 | 7.01 |
| NM_001046379.1 | CNN1 | 7.74 | 6.46 | 0.0000 | 0.0000 | 7.03 |
| NM_001099053.1 | LOXL2 | 7.69 | 7.26 | 0.0000 | 0.0000 | 6.26 |
| NM_001083644.1 | BCAT1 | 7.66 | 7.33 | 0.0000 | 0.0000 | 6.72 |
| NM_001098001.1 | FAP | 7.64 | 7.57 | 0.0000 | 0.0000 | 6.01 |
| NM_001166511.1 | COL4A1 | 7.64 | 7.04 | 0.0000 | 0.0000 | 8.16 |
| XM_003584268.1 | LOC520070 | 7.64 | 7.59 | 0.0000 | 0.0000 | 6.69 |
| NM_001098134.1 | SMOC2 | 7.63 | 6.91 | 0.0000 | 0.0000 | 9.38 |
| XM_002690397.1 | DACT2 | 7.58 | 6.95 | 0.0000 | 0.0000 | 5.58 |
| XM_001788106.3 | MGC127538 | 7.55 | 7.02 | 0.0000 | 0.0000 | 6.31 |
| XM_002685670.1 | CD24 | 7.44 | 7.11 | 0.0000 | 0.0000 | 6.26 |
| NM_173969.3 | VIM | 7.42 | 7.03 | 0.0000 | 0.0000 | 8.02 |
| ENSBTAT0000008743 | PIP | 7.36 | 6.32 | 0.0000 | 0.0000 | 7.20 |
| NM_001105617.2 | HOXA9 | 7.35 | 6.78 | 0.0000 | 0.0000 | 5.54 |
| NM_001034328.1 | OSR2 | 7.31 | 7.03 | 0.0000 | 0.0000 | 6.74 |
| NM_001205527.1 | SHOX2 | 7.25 | 7.21 | 0.0000 | 0.0000 | 5.62 |
| NM_001192658.1 | RORB | 7.18 | 6.91 | 0.0000 | 0.0000 | 5.31 |
| XM_002685288.1 | HOXD9 | 7.14 | 7.02 | 0.0000 | 0.0000 | 6.73 |
| NM_001192367.1 | MCOLN3 | 7.13 | 6.63 | 0.0000 | 0.0000 | 6.29 |
| NM_001100299.1 | CRISPLD2 | 7.13 | 7.56 | 0.0000 | 0.0000 | 8.20 |
| NM_173950.2 | PGF | 7.09 | 6.78 | 0.0000 | 0.0000 | 5.30 |
| NM_001163778.1 | FN1 | 7.06 | 6.21 | 0.0000 | 0.0000 | 7.83 |
| NM_001034611.1 | PDZK1 | 7.06 | 5.71 | 0.0000 | 0.0003 | 7.07 |
| NM_174140.3 | SERPINF1 | 7.05 | 6.51 | 0.0000 | 0.0000 | 7.79 |
| NM_001035470.2 | MRGPRF | 7.03 | 6.74 | 0.0000 | 0.0000 | 6.03 |
| XM_002686666.1 | DLX6 | 7.03 | 6.59 | 0.0000 | 0.0000 | 5.62 |
| XM_003583032.1 | LOC100851446 | 7.00 | 6.69 | 0.0000 | 0.0000 | 5.41 |
| NM_174702.3 | AQP1 | 6.96 | 6.35 | 0.0000 | 0.0000 | 7.61 |
| NM_001034227.1 | MPTX | 6.96 | 5.99 | 0.0000 | 0.0000 | 6.42 |
| NM_174798.2 | MSX1 | 6.94 | 5.86 | 0.0000 | 0.0000 | 9.94 |
| NM_001099000.1 | GLI1 | 6.94 | 6.80 | 0.0000 | 0.0000 | 5.58 |

| | | | | | | |
|----------------|--------------|------|------|--------|--------|-------|
| NM_001078026.1 | TNC | 6.91 | 7.19 | 0.0000 | 0.0000 | 5.93 |
| XM_002688974.1 | FBN2 | 6.91 | 5.00 | 0.0000 | 0.0000 | 6.04 |
| NM_001143869.1 | EMILIN2 | 6.90 | 7.14 | 0.0000 | 0.0000 | 7.46 |
| NM_001034538.1 | SNAI2 | 6.81 | 6.59 | 0.0000 | 0.0000 | 5.75 |
| NM_174460.2 | SFRP1 | 6.78 | 7.00 | 0.0000 | 0.0000 | 7.33 |
| NM_174141.2 | PENK | 6.77 | 6.47 | 0.0000 | 0.0000 | 5.48 |
| NM_174669.2 | SERPINE2 | 6.73 | 5.86 | 0.0000 | 0.0000 | 7.05 |
| NM_174707.2 | MGP | 6.70 | 6.13 | 0.0001 | 0.0002 | 11.72 |
| XM_584835.5 | B4GALNT2 | 6.68 | 6.41 | 0.0000 | 0.0000 | 5.16 |
| NM_001101979.1 | EDN3 | 6.66 | 6.37 | 0.0000 | 0.0000 | 5.61 |
| XM_003587968.1 | GPR124 | 6.64 | 6.58 | 0.0000 | 0.0000 | 8.27 |
| XM_590993.3 | LOC513329 | 6.61 | 6.38 | 0.0000 | 0.0000 | 7.05 |
| NM_001099948.1 | TNMD | 6.61 | 6.40 | 0.0000 | 0.0000 | 5.27 |
| NM_001145035.1 | C15H11ORF96 | 6.59 | 6.01 | 0.0000 | 0.0000 | 6.16 |
| NM_001083369.1 | TMEM130 | 6.56 | 6.20 | 0.0000 | 0.0000 | 5.46 |
| NM_001046532.1 | RAB3IL1 | 6.51 | 6.44 | 0.0000 | 0.0000 | 6.12 |
| NM_001013001.1 | WNT2 | 6.50 | 6.72 | 0.0000 | 0.0000 | 6.37 |
| NM_001008416.1 | KLK1 | 6.47 | 6.24 | 0.0000 | 0.0000 | 6.94 |
| NM_174087.3 | IGF2 | 6.46 | 6.32 | 0.0000 | 0.0000 | 10.19 |
| NM_173903.3 | CPE | 6.42 | 4.37 | 0.0000 | 0.0000 | 7.54 |
| XM_002686570.2 | COL6A3 | 6.42 | 6.01 | 0.0000 | 0.0000 | 9.72 |
| NM_001045913.1 | RRAD | 6.37 | 6.34 | 0.0000 | 0.0000 | 5.54 |
| NM_001099105.1 | HOXD10 | 6.37 | 6.50 | 0.0000 | 0.0000 | 6.12 |
| NM_001099385.1 | RUNX1T1 | 6.35 | 5.96 | 0.0000 | 0.0000 | 5.93 |
| NM_001015642.2 | CPXM1 | 6.33 | 6.40 | 0.0000 | 0.0000 | 5.90 |
| NM_001083748.1 | TWIST2 | 6.32 | 6.08 | 0.0000 | 0.0000 | 5.29 |
| NM_174388.2 | MFAP2 | 6.32 | 6.18 | 0.0000 | 0.0000 | 8.75 |
| NM_001040482.1 | KCNJ8 | 6.31 | 6.04 | 0.0000 | 0.0000 | 5.36 |
| NM_001034564.2 | GPR133 | 6.30 | 6.58 | 0.0000 | 0.0000 | 5.71 |
| NM_001014845.2 | NPY | 6.28 | 5.93 | 0.0000 | 0.0000 | 5.41 |
| NM_174183.2 | SELP | 6.25 | 5.79 | 0.0000 | 0.0000 | 5.45 |
| XM_002685618.1 | COL16A1 | 6.23 | 6.37 | 0.0000 | 0.0000 | 8.80 |
| NM_001101156.1 | PMP22 | 6.22 | 6.28 | 0.0000 | 0.0000 | 6.84 |
| NM_001097568.1 | ID1 | 6.19 | 6.79 | 0.0000 | 0.0000 | 8.42 |
| NM_174134.2 | OXTR | 6.18 | 5.97 | 0.0000 | 0.0000 | 5.40 |
| NM_001076301.1 | APOD | 6.18 | 6.43 | 0.0000 | 0.0000 | 6.71 |
| NM_001046121.1 | SLC11A2 | 6.14 | 5.12 | 0.0000 | 0.0000 | 10.13 |
| XM_001789060.1 | LOC790476 | 6.10 | 5.04 | 0.0000 | 0.0000 | 7.79 |
| XR_139433.1 | LOC100337023 | 6.09 | 5.75 | 0.0000 | 0.0000 | 7.93 |
| NM_174233.2 | AGTR1 | 6.04 | 5.81 | 0.0000 | 0.0000 | 5.16 |
| NM_001101044.2 | PLBD1 | 6.01 | 6.25 | 0.0000 | 0.0000 | 7.26 |
| NM_001075126.1 | COL6A2 | 6.00 | 5.91 | 0.0000 | 0.0000 | 6.02 |
| XM_005206031.1 | SYT1 | 6.00 | 5.72 | 0.0000 | 0.0000 | 4.96 |
| XM_002692011.1 | COL4A2 | 5.94 | 5.59 | 0.0000 | 0.0000 | 8.66 |
| NM_001015590.2 | ITIH4 | 5.94 | 6.11 | 0.0000 | 0.0000 | 6.75 |
| NM_001206283.1 | EFNB3 | 5.89 | 5.97 | 0.0000 | 0.0000 | 5.43 |
| NM_001013592.1 | ACTG2 | 5.88 | 4.54 | 0.0000 | 0.0000 | 6.55 |
| XM_002684144.1 | LOC100297468 | 5.86 | 5.62 | 0.0000 | 0.0000 | 7.48 |
| NM_001098381.1 | CXCR7 | 5.86 | 5.76 | 0.0000 | 0.0000 | 5.04 |
| NM_001099191.1 | ROBO4 | 5.81 | 5.88 | 0.0000 | 0.0000 | 7.27 |
| NM_174118.2 | MYOC | 5.80 | 5.72 | 0.0000 | 0.0000 | 7.11 |
| NM_181667.1 | ADAMTS4 | 5.79 | 5.41 | 0.0000 | 0.0000 | 5.01 |
| NM_001205320.1 | OLFM2 | 5.77 | 5.70 | 0.0000 | 0.0000 | 5.05 |
| NM_001102065.1 | NID2 | 5.76 | 5.64 | 0.0000 | 0.0000 | 6.62 |
| NM_001035045.1 | FSCN1 | 5.74 | 5.96 | 0.0000 | 0.0000 | 6.97 |
| NM_001076820.1 | DNM1 | 5.74 | 5.73 | 0.0000 | 0.0000 | 6.73 |
| XM_003586784.2 | CD93 | 5.74 | 5.77 | 0.0000 | 0.0000 | 5.77 |
| NM_001046611.2 | LDB2 | 5.74 | 5.61 | 0.0000 | 0.0000 | 5.15 |
| NM_001075771.1 | PARM1 | 5.73 | 5.38 | 0.0000 | 0.0000 | 6.42 |
| XM_003588045.3 | CD248 | 5.71 | 5.88 | 0.0000 | 0.0000 | 6.09 |
| XM_002690525.2 | ITGA11 | 5.71 | 5.70 | 0.0000 | 0.0000 | 5.41 |

| | | | | | | |
|----------------|--------------|------|------|--------|--------|-------|
| NM_001098982.1 | CCDC80 | 5.70 | 5.09 | 0.0000 | 0.0000 | 9.41 |
| NM_174703.2 | TNXB | 5.70 | 5.61 | 0.0000 | 0.0000 | 7.53 |
| NM_001076891.1 | DAPP1 | 5.69 | 5.97 | 0.0000 | 0.0000 | 5.93 |
| NM_001012519.1 | AKR1B1 | 5.69 | 4.67 | 0.0000 | 0.0000 | 6.26 |
| XM_592756.4 | FNDC1 | 5.66 | 5.06 | 0.0000 | 0.0000 | 8.58 |
| NM_001075983.1 | MMP19 | 5.66 | 5.80 | 0.0000 | 0.0000 | 7.06 |
| NM_001075832.1 | EFHD1 | 5.65 | 5.11 | 0.0000 | 0.0000 | 6.55 |
| NM_001101127.1 | GALNTL1 | 5.63 | 5.25 | 0.0000 | 0.0000 | 6.86 |
| NM_001040589.1 | MUSTN1 | 5.63 | 6.00 | 0.0000 | 0.0000 | 7.95 |
| NM_001034707.1 | RGS5 | 5.63 | 5.65 | 0.0000 | 0.0000 | 5.49 |
| XR_138968.1 | LOC100847618 | 5.61 | 5.68 | 0.0001 | 0.0001 | 6.28 |
| XM_864684.4 | MOXD1 | 5.59 | 4.09 | 0.0000 | 0.0000 | 6.07 |
| NM_001101165.1 | CRISPLD1 | 5.58 | 5.29 | 0.0000 | 0.0000 | 4.83 |
| NM_001076201.2 | C1QTNF7 | 5.55 | 5.58 | 0.0000 | 0.0000 | 5.67 |
| XM_003587297.1 | DACT3 | 5.54 | 5.43 | 0.0000 | 0.0000 | 5.48 |
| NM_001078136.1 | PCP4 | 5.54 | 6.54 | 0.0000 | 0.0000 | 8.59 |
| NM_001076330.2 | PRSS16 | 5.51 | 5.66 | 0.0000 | 0.0000 | 6.56 |
| NM_001046522.1 | TMEM100 | 5.51 | 5.26 | 0.0000 | 0.0000 | 5.04 |
| XM_001254294.3 | LOC786683 | 5.49 | 5.17 | 0.0000 | 0.0000 | 4.96 |
| XM_002701345.1 | DCHS1 | 5.48 | 5.38 | 0.0000 | 0.0000 | 7.10 |
| XM_003582575.1 | LOC783399 | 5.47 | 5.28 | 0.0000 | 0.0001 | 5.05 |
| NM_001103232.1 | PRDM8 | 5.47 | 4.46 | 0.0000 | 0.0000 | 6.14 |
| NM_001101186.1 | S1PR3 | 5.47 | 5.35 | 0.0000 | 0.0000 | 5.11 |
| NM_001098860.1 | RAMP2 | 5.46 | 5.49 | 0.0000 | 0.0000 | 8.81 |
| NR_003958.2 | H19 | 5.45 | 5.39 | 0.0000 | 0.0000 | 6.40 |
| NM_001075197.1 | OLFML3 | 5.45 | 5.58 | 0.0000 | 0.0000 | 9.32 |
| NM_001102493.1 | DLC1 | 5.44 | 4.24 | 0.0000 | 0.0000 | 7.12 |
| NM_174680.2 | KCNMA1 | 5.44 | 5.26 | 0.0000 | 0.0000 | 7.58 |
| NM_001046516.1 | DYNC111 | 5.41 | 5.48 | 0.0000 | 0.0000 | 5.78 |
| NM_001075309.1 | GPM6A | 5.41 | 4.93 | 0.0000 | 0.0000 | 5.04 |
| NM_173888.3 | ADM | 5.41 | 5.29 | 0.0000 | 0.0000 | 7.85 |
| NM_001110445.1 | PCP4L1 | 5.40 | 5.30 | 0.0000 | 0.0000 | 5.07 |
| NM_001078162.1 | FABP7 | 5.40 | 5.44 | 0.0000 | 0.0000 | 5.09 |
| NM_001076550.1 | C1S | 5.40 | 6.06 | 0.0000 | 0.0000 | 8.72 |
| NM_001083660.1 | MGC155285 | 5.39 | 5.21 | 0.0000 | 0.0000 | 4.86 |
| NM_001076460.1 | CLDN5 | 5.38 | 5.46 | 0.0000 | 0.0000 | 6.65 |
| NM_001075313.1 | DLX5 | 5.38 | 5.20 | 0.0000 | 0.0000 | 7.31 |
| NM_001081722.1 | FADS6 | 5.37 | 5.68 | 0.0000 | 0.0000 | 5.87 |
| NM_001081624.1 | CDH11 | 5.33 | 5.76 | 0.0000 | 0.0000 | 7.41 |
| NM_001192345.1 | PDGFRA | 5.33 | 5.16 | 0.0000 | 0.0000 | 5.43 |
| NM_001082457.1 | UNC93A | 5.33 | 4.05 | 0.0000 | 0.0001 | 6.23 |
| NM_001076342.1 | B3GNT9 | 5.32 | 5.67 | 0.0000 | 0.0000 | 6.17 |
| NM_001035385.2 | OLFML1 | 5.30 | 5.19 | 0.0000 | 0.0000 | 5.43 |
| NM_001075879.1 | CHST9 | 5.29 | 5.15 | 0.0000 | 0.0000 | 5.29 |
| XM_585971.6 | PDZRN3 | 5.28 | 4.69 | 0.0000 | 0.0000 | 5.44 |
| NM_001076049.1 | EFEMP2 | 5.27 | 5.47 | 0.0000 | 0.0000 | 6.17 |
| NM_001083738.1 | GJA4 | 5.27 | 4.95 | 0.0000 | 0.0000 | 6.73 |
| NM_194465.2 | MRVI1 | 5.23 | 4.85 | 0.0000 | 0.0000 | 5.20 |
| XM_002696635.1 | CYP1A1 | 5.23 | 5.01 | 0.0000 | 0.0000 | 4.96 |
| XM_003585119.1 | TMEM132C | 5.20 | 5.18 | 0.0000 | 0.0000 | 5.28 |
| XM_002696468.1 | NKD2 | 5.20 | 5.30 | 0.0000 | 0.0000 | 8.40 |
| NM_001206659.1 | TMEM200C | 5.20 | 5.15 | 0.0000 | 0.0000 | 5.50 |
| NM_001083715.1 | LMOD1 | 5.20 | 4.93 | 0.0000 | 0.0000 | 6.58 |
| NM_001102382.1 | NOV | 5.20 | 6.43 | 0.0000 | 0.0000 | 6.90 |
| NM_001078066.1 | ESAM | 5.18 | 5.15 | 0.0000 | 0.0000 | 5.47 |
| NM_001075789.1 | SOX18 | 5.17 | 5.16 | 0.0000 | 0.0000 | 5.80 |
| NM_001077844.1 | C14H8ORF47 | 5.15 | 4.92 | 0.0000 | 0.0000 | 4.88 |
| NM_001037626.1 | SMPX | 5.14 | 4.44 | 0.0001 | 0.0003 | 4.86 |
| NM_174595.2 | S100A4 | 5.14 | 5.11 | 0.0000 | 0.0000 | 10.14 |
| XM_001787671.3 | COL9A3 | 5.13 | 5.10 | 0.0000 | 0.0000 | 5.04 |
| XM_002690338.2 | AKAP12 | 5.11 | 4.47 | 0.0000 | 0.0000 | 6.40 |

| | | | | | | |
|----------------|--------------|------|------|--------|--------|-------|
| NM_001192922.1 | NRXN2 | 5.11 | 5.30 | 0.0000 | 0.0000 | 6.90 |
| XM_583112.5 | SEMASA | 5.10 | 4.59 | 0.0000 | 0.0000 | 5.59 |
| NM_001035353.1 | PLVAP | 5.08 | 5.15 | 0.0000 | 0.0000 | 6.29 |
| XM_003585090.1 | LOC100849577 | 5.08 | 4.99 | 0.0000 | 0.0000 | 6.59 |
| NM_174762.1 | UGT1A6 | 5.07 | 4.81 | 0.0000 | 0.0000 | 5.34 |
| NM_174642.1 | HSD11B2 | 5.06 | 4.88 | 0.0000 | 0.0000 | 8.31 |
| NM_001205858.1 | C6H4ORF31 | 5.06 | 4.80 | 0.0000 | 0.0000 | 4.88 |
| NM_001101843.1 | COLEC12 | 5.05 | 5.19 | 0.0000 | 0.0000 | 7.30 |
| NM_001206755.1 | FAM171B | 5.05 | 5.05 | 0.0000 | 0.0000 | 4.86 |
| NM_001001156.1 | ADAM12 | 5.04 | 5.00 | 0.0000 | 0.0000 | 5.86 |
| NM_173946.2 | OGN | 5.04 | 5.03 | 0.0000 | 0.0000 | 5.59 |
| NM_001098029.1 | FBLN1 | 5.03 | 4.67 | 0.0000 | 0.0000 | 9.90 |
| NM_177944.2 | MAOB | 5.03 | 4.92 | 0.0000 | 0.0000 | 6.09 |
| NM_001034309.1 | ASPN | 5.03 | 5.00 | 0.0000 | 0.0000 | 5.46 |
| NM_001034407.1 | C1R | 5.02 | 5.60 | 0.0000 | 0.0000 | 7.99 |
| NM_001243326.1 | SH3BGR | 5.01 | 5.04 | 0.0000 | 0.0000 | 5.27 |
| NM_001081594.1 | RASD2 | 5.00 | 5.07 | 0.0000 | 0.0000 | 5.20 |
| NM_001205624.1 | COL5A3 | 4.92 | 5.11 | 0.0000 | 0.0000 | 5.80 |
| NM_001102514.1 | GRIK1 | 4.92 | 4.68 | 0.0000 | 0.0000 | 4.66 |
| NM_174797.2 | SERPINA14 | 4.92 | 5.17 | 0.0000 | 0.0000 | 5.03 |
| NM_001025343.1 | RBP1 | 4.91 | 5.06 | 0.0000 | 0.0000 | 8.76 |
| NM_001102299.1 | PARVB | 4.90 | 5.06 | 0.0000 | 0.0000 | 5.86 |
| XM_003585388.1 | COL4A4 | 4.90 | 4.78 | 0.0000 | 0.0000 | 5.20 |
| NM_001034744.1 | TMEM37 | 4.88 | 4.81 | 0.0000 | 0.0000 | 5.84 |
| NM_001034537.1 | GAL3ST4 | 4.87 | 4.36 | 0.0000 | 0.0000 | 4.87 |
| NM_174437.1 | PROCR | 4.87 | 4.82 | 0.0000 | 0.0000 | 6.96 |
| NM_001102335.1 | PGM5 | 4.87 | 4.78 | 0.0000 | 0.0000 | 10.37 |
| NM_001037488.1 | CDCA7 | 4.87 | 4.02 | 0.0000 | 0.0000 | 6.99 |
| XM_003586664.1 | LOC100848673 | 4.86 | 4.47 | 0.0000 | 0.0000 | 6.37 |
| NM_001014946.1 | FBLN5 | 4.85 | 4.60 | 0.0000 | 0.0000 | 7.24 |
| XM_003585941.1 | LOC100848662 | 4.85 | 4.52 | 0.0000 | 0.0000 | 4.76 |
| NM_001038065.1 | GPNMB | 4.84 | 4.41 | 0.0000 | 0.0000 | 5.01 |
| NM_001078150.2 | LRRC17 | 4.84 | 5.30 | 0.0000 | 0.0000 | 6.98 |
| XM_606519.3 | SCARF2 | 4.84 | 4.14 | 0.0000 | 0.0000 | 5.46 |
| XM_001787662.3 | CTHRC1 | 4.83 | 4.56 | 0.0000 | 0.0000 | 4.61 |
| XM_005203378.1 | CLCNKA | 4.83 | 4.47 | 0.0001 | 0.0001 | 4.68 |
| NM_001102499.1 | SCARA5 | 4.82 | 4.54 | 0.0000 | 0.0001 | 7.94 |
| NM_001105644.1 | LOC788205 | 4.78 | 4.94 | 0.0000 | 0.0000 | 6.99 |
| NM_175801.2 | FST | 4.77 | 4.99 | 0.0000 | 0.0000 | 7.31 |
| NM_001083479.1 | ACVRL1 | 4.76 | 4.96 | 0.0000 | 0.0000 | 8.06 |
| NM_001103299.1 | PLS1 | 4.74 | 4.49 | 0.0000 | 0.0000 | 5.07 |
| XM_864013.4 | COL23A1 | 4.74 | 4.79 | 0.0000 | 0.0000 | 6.15 |
| NM_174557.3 | IGFBP4 | 4.74 | 4.12 | 0.0000 | 0.0000 | 7.97 |
| NM_001206114.1 | ADAMTS19 | 4.72 | 4.68 | 0.0000 | 0.0000 | 5.08 |
| XM_001254148.3 | FSTL1 | 4.72 | 4.90 | 0.0000 | 0.0000 | 10.08 |
| XM_587893.4 | LOC510716 | 4.72 | 4.40 | 0.0000 | 0.0000 | 8.46 |
| NM_173897.1 | CA4 | 4.71 | 4.73 | 0.0000 | 0.0000 | 5.82 |
| NM_181010.2 | EDN1 | 4.70 | 4.41 | 0.0000 | 0.0000 | 4.75 |
| NM_177503.2 | LRAT | 4.69 | 4.57 | 0.0000 | 0.0000 | 6.27 |
| NM_001014899.1 | TCF21 | 4.68 | 4.46 | 0.0000 | 0.0000 | 6.38 |
| NM_001206519.1 | LAMB1 | 4.68 | 4.96 | 0.0000 | 0.0000 | 8.90 |
| NM_001102276.1 | MGC148992 | 4.68 | 4.59 | 0.0000 | 0.0000 | 6.63 |
| NM_001102524.1 | APLNR | 4.66 | 4.65 | 0.0000 | 0.0000 | 4.86 |
| NM_001076119.1 | TSPAN5 | 4.66 | 4.22 | 0.0000 | 0.0000 | 4.75 |
| NM_001101176.1 | COL8A1 | 4.63 | 4.20 | 0.0000 | 0.0000 | 4.62 |
| XM_001788013.3 | PLEKHG4 | 4.60 | 4.49 | 0.0000 | 0.0000 | 4.95 |
| NM_001102528.1 | MATN2 | 4.59 | 4.56 | 0.0000 | 0.0000 | 6.33 |
| NM_001034765.1 | THY1 | 4.59 | 5.65 | 0.0012 | 0.0002 | 8.47 |
| NM_001099145.1 | TMEM176B | 4.57 | 4.64 | 0.0000 | 0.0000 | 6.02 |
| NM_001193243.1 | GPR116 | 4.55 | 4.47 | 0.0000 | 0.0000 | 6.75 |
| NM_001101180.1 | APOLD1 | 4.54 | 4.62 | 0.0000 | 0.0000 | 6.94 |

| | | | | | | |
|----------------|--------------|------|------|--------|--------|-------|
| NM_001191132.2 | FLT1 | 4.52 | 4.17 | 0.0000 | 0.0000 | 6.01 |
| XM_002686730.1 | LOC100296627 | 4.51 | 4.15 | 0.0000 | 0.0000 | 7.49 |
| NM_001098473.1 | B3GNT3 | 4.51 | 4.58 | 0.0000 | 0.0000 | 5.61 |
| NM_001113174.1 | CXCL12 | 4.51 | 4.25 | 0.0000 | 0.0000 | 5.29 |
| XM_613967.3 | PRRX2 | 4.50 | 4.69 | 0.0000 | 0.0000 | 7.08 |
| XM_003583217.1 | RGS2 | 4.50 | 4.34 | 0.0000 | 0.0000 | 8.03 |
| NM_001206811.1 | LPCAT1 | 4.50 | 4.79 | 0.0000 | 0.0000 | 7.74 |
| NM_001077990.1 | LHFP | 4.50 | 4.26 | 0.0000 | 0.0000 | 5.80 |
| NM_001244446.1 | ECSCR | 4.49 | 4.37 | 0.0000 | 0.0000 | 6.94 |
| NM_001099203.1 | GRRP1 | 4.48 | 4.68 | 0.0000 | 0.0000 | 5.81 |
| NM_001083498.1 | RHOJ | 4.48 | 4.03 | 0.0000 | 0.0000 | 4.87 |
| NM_001034223.1 | FHL3 | 4.47 | 4.63 | 0.0000 | 0.0000 | 6.70 |
| XM_003587266.1 | LTBP4 | 4.47 | 4.48 | 0.0000 | 0.0000 | 8.89 |
| XM_002690926.1 | TNFAIP8L3 | 4.47 | 4.13 | 0.0000 | 0.0000 | 7.11 |
| NM_001075830.1 | MXRA8 | 4.46 | 4.34 | 0.0000 | 0.0000 | 5.36 |
| NM_174464.2 | SPARC | 4.46 | 4.50 | 0.0001 | 0.0001 | 9.96 |
| NM_176608.1 | GHR | 4.45 | 4.64 | 0.0000 | 0.0000 | 6.15 |
| NM_001080307.1 | ABI3BP | 4.45 | 4.02 | 0.0000 | 0.0000 | 6.06 |
| NM_001102116.1 | CSGALNACT1 | 4.43 | 4.29 | 0.0000 | 0.0000 | 5.47 |
| NM_001046585.1 | CCL14 | 4.42 | 4.40 | 0.0000 | 0.0000 | 5.20 |
| XR_083279.2 | LOC785554 | 4.42 | 4.33 | 0.0000 | 0.0000 | 6.73 |
| XM_003582250.1 | ABCC9 | 4.41 | 4.15 | 0.0000 | 0.0000 | 4.52 |
| XM_581642.5 | WFDC1 | 4.40 | 4.94 | 0.0000 | 0.0000 | 9.29 |
| XM_005205566.1 | STEAP1 | 4.39 | 4.84 | 0.0000 | 0.0000 | 6.98 |
| NM_001083505.1 | RAMP3 | 4.38 | 4.37 | 0.0000 | 0.0000 | 8.33 |
| NM_174603.3 | SLC2A3 | 4.38 | 4.33 | 0.0000 | 0.0000 | 6.20 |
| NM_174443.2 | PTGES | 4.35 | 4.13 | 0.0000 | 0.0000 | 5.69 |
| XM_868432.4 | LOC616414 | 4.34 | 4.18 | 0.0000 | 0.0000 | 8.92 |
| XM_581588.6 | TRPA1 | 4.33 | 4.12 | 0.0000 | 0.0000 | 4.73 |
| NM_001206785.1 | IGSF10 | 4.31 | 4.36 | 0.0000 | 0.0000 | 4.82 |
| NM_001167894.1 | F13A1 | 4.28 | 4.38 | 0.0000 | 0.0000 | 5.69 |
| NM_174414.3 | PDE1A | 4.28 | 4.58 | 0.0000 | 0.0000 | 5.19 |
| NM_001098056.1 | TNFRSF11B | 4.23 | 4.05 | 0.0000 | 0.0000 | 4.97 |
| NM_001046616.1 | HSD17B13 | 4.23 | 4.94 | 0.0000 | 0.0000 | 6.51 |
| XR_138907.1 | LOC100848883 | 4.22 | 4.22 | 0.0000 | 0.0000 | 5.01 |
| NM_173991.2 | APOE | 4.21 | 4.86 | 0.0000 | 0.0000 | 7.65 |
| NM_001045898.1 | NPY1R | 4.21 | 4.19 | 0.0000 | 0.0000 | 4.89 |
| NM_001075877.1 | ME3 | 4.20 | 4.15 | 0.0000 | 0.0000 | 5.46 |
| NM_001038050.2 | IFI27 | 4.20 | 4.55 | 0.0000 | 0.0000 | 9.60 |
| XM_582023.4 | RASL11A | 4.19 | 4.72 | 0.0000 | 0.0000 | 6.07 |
| NM_001034220.2 | LOC504773 | 4.18 | 4.48 | 0.0000 | 0.0000 | 5.54 |
| NM_001193246.1 | DAB2 | 4.17 | 4.43 | 0.0000 | 0.0000 | 6.19 |
| NM_001035457.3 | PRSS35 | 4.16 | 4.13 | 0.0000 | 0.0000 | 6.58 |
| NM_174745.2 | MMP2 | 4.15 | 4.10 | 0.0000 | 0.0000 | 7.22 |
| NM_177507.2 | TGM2 | 4.15 | 4.01 | 0.0000 | 0.0000 | 10.36 |
| XM_868029.5 | LOC616063 | 4.15 | 4.25 | 0.0000 | 0.0000 | 7.52 |
| NM_001075473.1 | LOC510860 | 4.14 | 4.41 | 0.0000 | 0.0000 | 5.15 |
| XM_002688934.1 | ANKRD24 | 4.12 | 4.47 | 0.0000 | 0.0000 | 5.83 |
| NM_001077828.1 | IGF1 | 4.09 | 4.09 | 0.0000 | 0.0000 | 4.70 |
| NM_001076933.1 | RASL12 | 4.09 | 4.18 | 0.0000 | 0.0000 | 5.84 |
| NM_001192935.1 | SLC35F3 | 4.09 | 4.04 | 0.0000 | 0.0000 | 4.90 |
| XM_002702778.2 | COL7A1 | 4.08 | 4.52 | 0.0000 | 0.0000 | 10.35 |
| NM_001038050.1 | ISG12(A) | 4.06 | 4.47 | 0.0000 | 0.0000 | 9.83 |
| NM_001192742.1 | PI15 | 4.06 | 4.10 | 0.0000 | 0.0000 | 4.86 |
| NM_001102050.1 | ANO4 | 4.02 | 4.04 | 0.0000 | 0.0000 | 5.11 |
| NM_001184724.1 | TM4SF18 | 4.01 | 4.08 | 0.0000 | 0.0000 | 7.00 |
| NM_174743.2 | SPON1 | 4.01 | 4.11 | 0.0000 | 0.0000 | 9.31 |
| NM_176858.2 | ALPL | 4.01 | 4.21 | 0.0000 | 0.0000 | 9.89 |

*fold change

9 BIBLIOGRAFÍA

9 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abascal I.; Skalaban S. R.; Grimm K. M.; Avilés M.; Martínez-Menarguez J. A.; Castells M. T.; Ballesta J.; Alhadeff J. A., 1998: *Alteration of the isoform composition of plasma-membrane-associated rat sperm alpha-L-fucosidase during late epididymal maturation: comparative characterization of the acidic and neutral isoforms*. *Biochemical Journal*, 333 201-207.
- Acott T. S.; Katz D. F.; Hoskins D. D., 1983: *Movement characteristics of bovine epididymal spermatozoa - effects of forward motility protein and epididymal maturation*. *Biology of Reproduction*, 29 389-399.
- Acuña O. S.; Jimenez-Movilla M.; Vilella I.; Jara L.; Canovas S.; Coy P.; Avilés M., 2014: *Detection of SPAM1 in the bovine oviductal fluid*. World Congress of Reproductive Biology. Edinburgh, UK.
- Acuña O. S.; Stetson I.; Izquierdo-Rico M.; Coy P.; Avilés M., 2011: *Expression of sperm adhesion molecule-1 (SPAM1) in cow and sow oviduct*. *Reproduction in Domestic Animals*, 46 79.
- Acuña O. S.; Vilella I.; Canovas S.; Coy P.; Jimenez-Movilla M.; Avilés M., 2014: *Detection of SPAM1 in exosomes isolated from the bovine oviductal fluid*. *Reproduction in Domestic Animals*, 49 97-98.
- Alavi-Shoushtari S. M.; Abedizadeh R.; Khaki A.; Mokarizadeh A.; Dorostkar K., 2014: *A study on the effects of the estrous cycle on uterine fluid and blood serum immunoglobulin G (IgG) content in the cow*. *Veterinary Research Forum*, 5 115-119.
- Alavi-Shoushtari S. M.; Asri-Rezai S.; Abshenas J., 2006: *A study of the uterine protein variations during the estrus cycle in the cow: A comparison with the serum proteins*. *Animal Reproduction Science*, 96 10-20.
- Allison A. C.; Hartree E. F., 1970: *Lysosomal enzymes in acrosome and their possible role in fertilization*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 21 501.
- Almeida F. F.; Leal M. C.; Franca L. R., 2006: *Testis morphometry, duration of spermatogenesis, and spermatogenic efficiency in the wild boar (Sus scrofa scrofa)*. *Biology of Reproduction*, 75 792-799.
- Amjadi F.; Salehi E.; Mehdizadeh M.; Aflatoonian R., 2014: *Role of the innate immunity in female reproductive tract*. *Advanced biomedical research*, 3 1.
- Anakwe O. O.; Gerton G. L., 1990: *Acrosome biogenesis begins during meiosis - evidence from the synthesis and distribution of an acrosomal glycoprotein, acrogranin, during guinea-pig spermatogenesis*. *Biology of Reproduction*, 42 317-328.
- Angrimani D. S.; Lucio C. F.; Veiga G. A.; Silva L. C.; Regazzi F. M.; Nichi M.; Vannucchi C. I., 2013: *Sperm maturation in dogs: sperm profile and enzymatic*

antioxidant status in ejaculated and epididymal spermatozoa. *Andrologia*, 46 814-819.

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.* *Biochemical Journal*, 374 551-557.

Araki Y.; Yoshida-Komiya H., 1998: *Mammalian oviduct-specific glycoprotein: characterization and potential role in fertilization process.* *Journal of Reproduction and Development* 21 3894-3906

Arangasamy A.; Kasimanickam V. R.; DeJarnette J. M.; Kasimanickam R. K., 2011: *Association of CRISP2, CCT8, PEBP1 mRNA abundance in sperm and sire conception rate in Holstein bulls.* *Theriogenology*, 76 570-577.

Arosh J. A.; Parent J.; Chapdelaine P.; Sirois J.; Fortier M. A., 2002: *Expression of cyclooxygenases 1 and 2 and prostaglandin E synthase in bovine endometrial tissue during the estrous cycle.* *Biology of Reproduction*, 67 161-169.

Asquith K. L.; Baleato R. M.; McLaughlin E. A.; Nixon B.; Aitken R. J., 2004: *Tyrosine phosphorylation activates surface chaperones facilitating sperm-zona recognition.* *Journal of Cell Science*, 117 3645-3657.

Austin C. R., 1951: *Observations on the penetration of the sperm into the mammalian egg.* *Australian Journal of Scientific Research Series B-Biological Sciences*, 4 581.

Austin C. R., 1952: *The capacitation of the mammalian sperm.* *Nature*, 170 326-326.

Avilés M.; Abascal I.; MartínezMenarguez J. A.; Castells M. T.; Skalaban S. R.; Ballesta J.; Alhadeff J. A., 1996: *Immunocytochemical localization and biochemical characterization of a novel plasma membrane-associated, neutral pH optimum alpha-L-fucosidase from rat testis and epididymal spermatozoa.* *Biochemical Journal*, 318 821-831.

Avilés M.; Gutiérrez-Adán A.; Coy P., 2010: *Oviductal secretions: Will they be key factors for the future ARTs?* *Molecular Human Reproduction*, 6 649-660 Pág.

Baba T.; Hoff H. B.; Nemoto H.; Lee H.; Orth J.; Arai Y.; Gerton G. L., 1993: *Acrogranin, an acrosomal cysteine-rich glycoprotein, is the precursor of the growth-modulating peptides, granulins, and epithelins, and is expressed in somatic as well as male germ-cells.* *Molecular Reproduction and Development*, 34 233-243.

Baba T.; Niida Y.; Michikawa Y.; Kashiwabara S.; Kodaira K.; Takenaka M.; Kohno N.; Gerton G. L.; Arai Y., 1994: *An acrosomal protein, sp32, in mammalian sperm is a binding-protein specific for 2 proacrosins and an acrosin intermediate.* *Journal of Biological Chemistry*, 269 10133-10140.

- Baibakov B.; Gauthier L.; Talbot P.; Rankin T. L.; Dean J., 2007: *Sperm binding to the zona pellucida is not sufficient to induce acrosome exocytosis*. *Development*, 134 933-943.
- Baker M. A.; Nixon B.; Naumovski N.; Aitken R. J., 2012: *Proteomic insights into the maturation and capacitation of mammalian spermatozoa*. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 58 211-217.
- Ball P. J. H.; Peters A. R., 2004: *Reproduction in Cattle*.
- Banning A.; Florian S.; Deubel S.; Thalmann S.; Muller-Schmehl K.; Jacobasch G.; Brigelius-Flohe R., 2008a: *GPX2 counteracts PGE2 production by dampening COX-2 and mPGES-1 expression in human colon cancer cells*. *Antioxidants and Redox Signaling*, 10 1491-1500.
- Banning A.; Kipp A.; Schmitmeier S.; Lowinger M.; Florian S.; Krehl S.; Thalmann S.; Thierbach R.; Steinberg P.; Brigelius-Flohe R., 2008b: *Glutathione peroxidase 2 inhibits cyclooxygenase-2-mediated migration and invasion of HT-29 adenocarcinoma cells but supports their growth as tumors in nude mice*. *Cancer Research*, 68 9746-9753.
- Bauersachs S.; Blum H.; Mallok S.; Wenigerkind H.; Rief S.; Prella K.; Wolf E., 2003: *Regulation of ipsilateral and contralateral bovine oviduct epithelial cell function in the postovulation period: A transcriptomics approach*. *Biology of Reproduction*, 68 1170-1177.
- Bauersachs S.; Mitko K.; Blum H.; Wolf E., 2007: *Technical note: Bovine oviduct and endometrium array version 1: A tailored tool for studying bovine endometrium biology and pathophysiology*. *Journal of Dairy Science*, 90 4420-4423.
- Bauersachs S.; Rehfeld S.; Ulbrich S. E.; Mallok S.; Prella K.; Wenigerkind H.; Einspanier R.; Blum H.; Wolf E., 2004: *Monitoring gene expression changes in bovine oviduct epithelial cells during the oestrous cycle*. *Journal of Molecular Endocrinology*, 32 449-466.
- Bauersachs S.; Ulbrich S. E.; Gross K.; Schmidt S. E. M.; Meyer H. H. D.; Einspanier R.; Wenigerkind H.; Vermehren M.; Blum H.; Sinowatz F.; Wolf E., 2005: *Gene expression profiling of bovine endometrium during the oestrous cycle: detection of molecular pathways involved in functional changes*. *Journal of Molecular Endocrinology*, 34 889-908.
- Bearer E. L.; Friend D. S., 1990: *Morphology of mammalian sperm membranes during differentiation, maturation, and capacitation*. *Journal of Electron Microscopy Technique*, 16 281-297.

- Bedford J. M.; Calvin H.; Cooper G. W., 1973: *The maturation of spermatozoa in the human epididymis. Journal of reproduction and fertility. Supplement, 18* 199-213.
- Belleannee C.; Belghazi M.; Labas V.; Teixeira-Gomes A. P.; Gatti J. L.; Dacheux J. L.; Dacheux F., 2011a: *Purification and identification of sperm surface proteins and changes during epididymal maturation. Proteomics, 11* 1952-1964.
- Belleannee C.; Labas V.; Teixeira-Gomes A. P.; Gatti J. L.; Dacheux J. L.; Dacheux F., 2011b: *Identification of luminal and secreted proteins in bull epididymis. Journal of Proteomics, 74* 59-78.
- Beltman M. E.; Mullen M. P.; Elia G.; Hilliard M.; Diskin M. G.; Evans A. C.; Crowe M. A., 2014: *Global proteomic characterization of uterine histotroph recovered from beef heifers yielding good quality and degenerate day 7 embryos. Domestic Animal Endocrinology, 46* 49-57.
- Berendt F. J.; Frohlich T.; Schmidt S. E. M.; Reichenbach H. D.; Wolf E.; Arnold G. J., 2005: *Holistic differential analysis of embryo-induced alterations in the proteome of bovine endometrium in the preattachment period. Proteomics, 5* 2551-2560.
- Bleil J. D.; Wassarman P. M., 1983: *Sperm egg interactions in the mouse - sequence of events and induction of the acrosome reaction by a zona pellucida glycoprotein. Developmental Biology, 95* 317-324.
- Blobel C. P., 2000: *Functional processing of fertilin: evidence for a critical role of proteolysis in sperm maturation and activation. Reviews of Reproduction, 5* 75-83.
- Bohring C.; Krause W., 2003: *Characterization of spermatozoa surface antigens by antisperm antibodies and its influence on acrosomal exocytosis. American Journal of Reproductive Immunology, 50* 411-419.
- Boice M. L.; Geisert R. D.; Blair R. M.; Verhage H. G., 1990: *Identification and characterization of bovine oviductal glycoproteins synthesized at estrus. Biology of Reproduction, 43* 457-465.
- Boilard M.; Reyes-Moreno C.; Lachance C.; Massicotte L.; Bailey J. L.; Sirard M. A.; 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. Biology of Reproduction, 71* 1879-1889.
- Bork K.; Chevrier C.; Paquignon M.; Jouannet P.; Dacheux J. L., 1988: *Flagellar motility and movement of boar spermatozoa during epididymal transit. Reproduction Nutrition Development, 28* 1307-1315.
- Brandt Y.; Lang A.; Rodriguez-Martinez H.; Madej A.; Einarsson S., 2006: *Impact of ACTH during oestrus on the ultrastructure of the spermatozoa and their*

- environment in the tubal reservoir of the postovulatory sow.* Animal Reproduction Science, *93* 231-245.
- Breitbart H.; Cohen G.; Rubinstein S., 2005: *Role of actin cytoskeleton in mammalian sperm capacitation and the acrosome reaction.* Reproduction, *129* 263-268.
- Brenner R.; Slayden O., 1994: Cyclic changes in the primate oviduct and endometrium. Kobil and Neill's *Physiology of Reproduction (Second Edition)*. New York, pp. 541-569.
- Bresson E.; Boucher-Kovalik S.; Chapdelaine P.; Madore E.; Harvey N.; Laberge P. Y.; Leboeuf M.; Fortier M. A., 2011: *The human aldose reductase AKR1B1 qualifies as the primary prostaglandin F synthase in the endometrium.* Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, *96* 210-219.
- Buhi W. C., 2002: *Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein.* Reproduction, *123* 355-362.
- Buhi W. C.; Alvarez I. M.; Kouba A. J., 2000: *Secreted proteins of the oviduct.* Cells Tissues Organs, *166* 165-179.
- Buhi W. C.; Alvarez I. M.; Sudhipong V.; Donessmith M. M., 1990: *Identification and characterization of denovo-synthesized porcine oviductal secretory proteins.* Biology of Reproduction, *43* 929-938.
- Busso D.; Goldweic N. M.; Hayashi M.; Kasahara M.; Cuasnicu P. S., 2007: *Evidence for the involvement of testicular protein CRISP2 in mouse sperm-egg fusion.* Biology of Reproduction, *76* 701-708.
- Caballero J.; Frenette G.; D'Amours O.; Belleannee C.; Lacroix-Pepin N.; Robert C.; Sullivan R., 2012: *Bovine sperm raft membrane associated Glioma Pathogenesis-Related 1-like protein 1 (GliPr1L1) is modified during the epididymal transit and is potentially involved in sperm binding to the zona pellucida.* Journal of Cellular Physiology, *227* 3876-3886.
- Carmeliet P.; Schoonjans L.; Kieckens L.; Ream B.; Degen J.; Bronson R.; Devos R.; Vandenoord J. J.; Collen D.; Mulligan R. C., 1994: *Physiological consequences of loss of plasminogen-activator gene-function in mice.* Nature, *368* 419-424.
- Carrasco L. C.; Coy P.; Avilés M.; Gadea J.; Romar R., 2008a: *Glycosidase determination in bovine oviducal fluid at the follicular and luteal phases of the oestrous cycle.* Reproduction Fertility and Development, *20* 808-817.
- Carrasco L. C.; Romar R.; Avilés M.; Gadea J.; Coy P., 2008b: *Determination of glycosidase activity in porcine oviductal fluid at the different phases of the estrous cycle.* Reproduction, *136* 833-842.
- Chabory E.; Damon C.; Lenoir A.; Henry-Berger J.; Vernet P.; Cadet R.; Saez F.; Drevet J. R., 2010: *Mammalian glutathione peroxidases control acquisition and*

- maintenance of spermatozoa integrity*. Journal of Animal Science, 88 1321-1331.
- Chandonnet L.; Roberts K. D.; Chapdelaine A.; Manjunath P., 1990: *Identification of heparin-binding proteins in bovine seminal plasma*. Molecular Reproduction and Development, 26 313-318.
- Chang M. C., 1951: *Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes*. Nature, 168 697-698.
- Chen H.; Griffiths G.; Galileo D. S.; Martin-DeLeon P. A., 2006: *Epididymal SPAM1 is a marker for sperm maturation in the mouse*. Biology of Reproduction, 74 923-930.
- Chen S.; Einspanier R.; Schoen J., 2013: *In vitro mimicking of estrous cycle stages in porcine oviduct epithelium cells: estradiol and progesterone regulate differentiation, gene expression, and cellular function*. Biology of Reproduction, 89 12.
- Cherr G. N.; Lambert H.; Meizel S.; Katz D. F., 1986: *Invitro studies of the golden-hamster sperm acrosome reaction - completion on the zona-pellucida and induction by homologous soluble zonae-pellucidae*. Developmental Biology, 114 119-131.
- Cherr G.; Yudin A.; Overstreet J., 2001: *The dual functions of GPI-anchored PH-20: hyaluronidase and intracellular signaling*. Matrix Biology, 20 515-525.
- Chiu P. C. N.; Chung M. K.; Tsang H. Y.; Koistinen R.; Koistinen H.; Seppala M.; Lee K. F.; Yeung W. S. B., 2005: *Glycodelin-S in human seminal plasma reduces cholesterol efflux and inhibits capacitation of spermatozoa*. Journal of Biological Chemistry, 280 25580-25589.
- Cho C. H.; Bunch D. O.; Faure J. E.; Goulding E. H.; Eddy E. M.; Primakoff P.; Myles D. G., 1998: *Fertilization defects in sperm from mice lacking fertilin beta*. Science, 281 1857-1859.
- Chocu S.; Calvel P.; Rolland A. D.; Pineau C., 2012: *Spermatogenesis in mammals: proteomic insights*. Systems Biology in Reproductive Medicine, 58 179-190.
- Clermont Y.; Trott M., 1969: *Duration of cycle of seminiferous epithelium in mouse and hamster determined by means of 3h-thymidine and radioautography*. Fertility and Sterility, 20 805.
- Cohen D. J.; Maldera J. A.; Muñoz M. W.; Ernesto J. I.; Vasen G.; Cuasnicu P. S., 2011: *Cysteine-Rich Secretory Proteins (CRISP) and their role in mammalian fertilization*. Biological Research, 44 135-138.

- Comer M. T.; Leese H. J.; Southgate J., 1998: *Induction of a differentiated ciliated cell phenotype in primary cultures of Fallopian tube epithelium*. Human Reproduction, *13* 3114-3120.
- Cooper T. G., 1998: *Interactions between epididymal secretions and spermatozoa*. *Journal of reproduction and fertility*. Supplement, *53* 119-136.
- Cooper T. G., 2005: *Cytoplasmic droplets: the good, the bad or just confusing?* Human Reproduction, *20* 9-11.
- Cornwall G. A., 2009: *New insights into epididymal biology and function*. Human Reproduction Update, *15* 213-227.
- Cowan A. E.; Nakhimovsky L.; Myles D. G.; Koppel D. E., 1997: *Barriers to diffusion of plasma membrane proteins form early during guinea pig spermiogenesis*. Biophysical Journal, *73* 507-516.
- Coy P.; Canovas S.; Mondejar I.; Saavedra M. D.; Romar R.; Grullon L.; Matas C.; Avilés M., 2008: *Oviduct-specific glycoprotein and heparin modulate sperm-zona pellucida interaction during fertilization and contribute to the control of polyspermy*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, *105* 15809-15814.
- Coy P.; Garcia-Vazquez F. A.; Visconti P. E.; Avilés M., 2012: *Roles of the oviduct in mammalian fertilization*. Reproduction, *144* 649-660.
- Cross N. L., 1998: *Role of cholesterol in sperm capacitation*. Biology of Reproduction, *59* 7-11.
- Dacheux J. L.; Belleannee C.; Jones R.; Labas V.; Belghazi M.; Guyonnet B.; Druart X.; Gatti J. L.; Dacheux F., 2009: *Mammalian epididymal proteome*. Molecular and Cellular Endocrinology, *306* 45-50.
- Dacheux J. L.; Dacheux F., 2014: *New insights into epididymal function in relation to sperm maturation*. Reproduction, *147* R27-R42.
- Dacheux J. L.; O Shea T.; Paquignon M., 1979: *Effects of osmolality, bicarbonate and buffer on the metabolism and motility of testicular, epididymal and ejaculated spermatozoa of boars*. Journal of Reproduction and Fertility, *55* 287-296.
- Dacheux J. L.; Voglmayr J. K., 1983: *Sequence of sperm cell-surface differentiation and its relationship to exogenous fluid proteins in the ram epididymis*. Biology of Reproduction, *29* 1033-1046.
- D'Ambrosio C.; Arena S.; Talamo F.; Ledda L.; Renzone G.; Ferrara L.; Scaloni A., 2005: *Comparative proteomic analysis of mammalian animal tissues and body fluids: bovine proteome database*. Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, *815* 157-168.

- D'Amours O.; Bordeleau L. J.; Frenette G.; Blondin P.; Leclerc P.; Sullivan R., 2012a: *Binder of sperm 1 and epididymal sperm binding protein 1 are associated with different bull sperm subpopulations*. *Reproduction*, 143 759-771.
- D'Amours O.; Frenette G.; Bordeleau L. J.; Allard N.; Leclerc P.; Blondin P.; Sullivan R., 2012b: *Epididymosomes transfer epididymal sperm binding protein 1 (ELSPBP1) to dead spermatozoa during epididymal transit in bovine*. *Biology of Reproduction*, 87 11.
- Davis B. K.; Byrne R.; 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 invitro*. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 558 257-266.
- Day A.; Quilter C.; Sargent C.; Mileham A., 2002: *Characterization of the porcine sperm adhesion molecule gene SPAM1- expression analysis, genomic structure, and chromosomal mapping*. *Animal Genetics*, 33 211-214.
- De Ondiz A., 2011: *Caracterización de las glicosidasas en el espermatozoide y su papel en la fecundación, con especial énfasis en la especie porcina*. Tesis doctoral, Universidad de Murcia.
- De Rooij D. G., 1968: *Stem cell renewal and duration of spermatogonial cycle in the gold hamster*. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 89 133-136.
- Demott R. P.; Suarez S. S., 1992: *Hyperactivated sperm progress in the mouse oviduct*. *Biology of Reproduction*, 46 779-785.
- Deng X.; He Y.; Martin-Deleon P., 2000: *Mouse Spam1 (PH-20): evidence for its expression in the epididymis and for a new category of spermatogenic-expressed genes*. *Journal of Andrology*, 21 822-832.
- Desnoyers L.; Manjunath P., 1992: *Major proteins of bovine seminal plasma exhibit novel interactions with phospholipid*. *Journal of Biological Chemistry*, 267 10149-10155.
- DeSouza M.; Murray M., 1995: *An estrogen-dependent secretory protein, which shares identity with chitinases, is expressed in a temporally and regionally specific manner in the sheep oviduct at the time of fertilization and embryo development*. *Endocrinology*, 136 2485-2496.
- Diez R.; Herbstreith M.; Osorio C.; Alzate O., 2010: Chapter – 4 *2-D Fluorescence Difference Gel Electrophoresis (DIGE) in Neuroproteomics.*, Boca Raton (FL): CRC Press edn.
- Drevet J. R., 2006: *The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: A complex story*. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 250 70-79.

- Druart X., 2012: *Sperm interaction with the female reproductive tract*. *Reproduction in Domestic Animals*, 47 348-352.
- Dube C.; Leclerc P.; Baba T.; Reyes-Moreno C.; Bailey J. L., 2005: *The proacrosin binding protein, sp32, is tyrosine phosphorylated during capacitation of pig sperm*. *Journal of Andrology*, 26 519-528.
- Eddy E. M.; Neill J. D.; Plant T. M.; Pfaff D. W.; Challis J. R. G.; Kretser D. M. d.; Richards J. S.; Wassarman P. M., 2006: Chapter 1 - The Spermatozoon. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Third Edition)*. Academic Press, St Louis, pp. 3-54.
- Ehrenwald E.; Foote R. H.; Parks J. E., 1990: *Bovine oviductal fluid components and their potential role in sperm cholesterol efflux*. *Molecular Reproduction and Development*, 25 195-204.
- Ellerman D. A.; Myles D. G.; Primakoff P., 2006: *A role for sperm surface protein disulfide isomerase activity in gamete fusion: Evidence for the participation of ERp57*. *Developmental Cell*, 10 831-837.
- Erickson G. F.; Shimasaki S., 2003: *The spatiotemporal expression pattern of the bone morphogenetic protein family in rat ovary cell types during the estrous cycle*. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1 9.
- Espana F.; Berrettini M.; Griffin J. H., 1989: *Purification and characterization of plasma protein-c inhibitor*. *Thrombosis Research*, 55 369-384.
- Espana F.; Estelles A.; Fernandez P. J.; Gilabert J.; Sanchezcuenca J.; Griffin J. H., 1993: *Evidence for the regulation of urokinase and tissue-type plasminogen activators by the serpin, protein-c inhibitor, in semen and blood-plasma*. *Thrombosis and Haemostasis*, 70 989-994.
- Evans E. A.; Zhang H.; Martin-DeLeon P. A., 2003: *SPAM1 (PH-20) protein and mRNA expression in the epididymides of humans and macaques: utilizing laser microdissection/RT-PCR*. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1 54.
- Fabrega A.; Puigmule M.; Dacheux J. L.; Bonet S.; Pinart E., 2012: *Glycocalyx characterisation and glycoprotein expression of Sus domesticus epididymal sperm surface samples*. *Reproduction Fertility and Development*, 24 619-630.
- Fahey J. V.; Schaefer T. M.; Channon J. Y.; Wira C. R., 2005: *Secretion of cytokines and chemokines by polarized human epithelial cells from the female reproductive tract*. *Human Reproduction*, 20 1439-1446.
- Fatehi A. N.; van den Hurk R.; Colenbrander B.; Daemen A.; van Tol H. T. A.; Monteiro R. M.; Roelen B. A. J.; Bevers M. M., 2005: *Expression of bone morphogenetic protein2 (BMP2), BMP4 and BMP receptors in the bovine ovary but absence of effects of BMP2 and BMP4 during IVM on bovine oocyte nuclear maturation and subsequent embryo development*. *Theriogenology*, 63 872-889.

- Faulkner S.; Elia G.; Mullen M. P.; O'Boyle P.; Dunn M. J.; Morris D., 2012: *A comparison of the bovine uterine and plasma proteome using iTRAQ proteomics*. *Proteomics*, 12 2014-2023.
- Faulkner S.; Elia G.; O'Boyle P.; Dunn M.; Morris D., 2013: *Composition of the bovine uterine proteome is associated with stage of cycle and concentration of systemic progesterone*. *Proteomics*, 13 3333-3353.
- Ferrer M.; Rodriguez H.; Zara L.; Yu Y.; Xu W.; Oko R., 2012: *MMP2 and acrosin are major proteinases associated with the inner acrosomal membrane and may cooperate in sperm penetration of the zona pellucida during fertilization*. *Cell and Tissue Research*, 349 881-895.
- Ficarro S.; Chertihin O.; Westbrook V. A.; White F.; Jayes F.; Kalab P.; Marto J. A.; Shabanowitz J.; Herr J. C.; Hunt D. F.; Visconti P. E., 2003: *Phosphoproteome analysis of capacitated human sperm - Evidence of tyrosine phosphorylation of a kinase-anchoring protein 3 and valosin-containing protein/p97 during capacitation*. *Journal of Biological Chemistry*, 278 11579-11589.
- Flesch F. M.; Gadella B. M., 2000: *Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization*. *Biochimica Et Biophysica Acta-Reviews on Biomembranes*, 1469 197-235.
- Florian S.; Wingler K.; Schmehl K.; Jacobasch G.; Kreuzer O. J.; Meyerhof W.; Brigelius-Flohe R., 2001: *Cellular and subcellular localization of gastrointestinal glutathione peroxidase in normal and malignant human intestinal tissue*. *Free Radical Research*, 35 655-663.
- Florman H. M.; Ducibella T.; Wassarman J. D.; Neill. M.; Plant. W.; Pfaff. R. G.; Challis. M. D.; Kretser. S. Richards. M., 2006: Chapter 2 - Fertilization in Mammals. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Third Edition)*. Academic Press, St Louis, pp. 55-112.
- Florman H. M.; Storey B. T., 1982: *Mouse gamete interactions: the zona pellucida is the site of the acrosome reaction leading to fertilization in vitro*. *Developmental Biology*, 91 121-130.
- Forde N.; Beltman M. E.; Duffy G. B.; Duffy P.; Mehta J. P.; O'Gaora P.; Roche J. F.; Lonergan P.; Crowe M. A., 2011a: *Changes in the Endometrial Transcriptome During the Bovine Estrous Cycle: Effect of Low Circulating Progesterone and Consequences for Conceptus Elongation*. *Biology of Reproduction*, 84 266-278.
- Forde N.; Beltman M. E.; Lonergan P.; Diskin M.; Roche J. F.; Crowe M. A., 2011b: *Oestrous cycles in Bos taurus cattle*. *Animal Reproduction Science*, 124 163-169.

- Forde N.; McGettigan P. A.; Mehta J. P.; O'Hara L.; Mamo S.; Bazer F. W.; Spencer T. E.; Lonergan P., 2014: *Proteomic analysis of uterine fluid during the pre-implantation period of pregnancy in cattle*. *Reproduction*, 147 575-587.
- Forde N.; Mehta J. P.; McGettigan P. A.; Mamo S.; Bazer F. W.; Spencer T. E.; Lonergan P., 2013: *Alterations in expression of endometrial genes coding for proteins secreted into the uterine lumen during conceptus elongation in cattle*. *Bmc Genomics*, 14 13.
- Foster J. A.; Friday B. B.; Maulit M. T.; Blobel C.; Winfrey V. P.; Olson G. E.; Kim K. S.; Gerton G. L., 1997: *AM67, a secretory component of the guinea pig sperm acrosomal matrix, is related to mouse sperm protein sp56 and the complement component 4-binding proteins*. *Journal of Biological Chemistry*, 272 12714-12722.
- Foster J. A.; Gerton G. L., 1996: *Autoantigen 1 of the guinea pig sperm acrosome is the homologue of mouse Tpx-1 and human TPX1 and is a member of the cysteine-rich secretory protein (CRISP) family*. *Molecular Reproduction and Development*, 44 221-229.
- Foster J. A.; Klotz K. L.; Flickinger C. J.; Thomas T. S.; Wright R. M.; Castillo J. R.; Herr J. C., 1994: *Human sp-10 - acrosomal distribution, processing, and fate after the acrosome reaction*. *Biology of Reproduction*, 51 1222-1231.
- Franca L. R.; Avelar G. F.; 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. Y.; Minguez P.; Bork P.; von Mering C.; Jensen L. J., 2013: *STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration*. *Nucleic Acids Research*, 41 D808-D815.
- Frenette G.; Girouard J.; D'Amours O.; Allard N.; Tessier L.; Sullivan R., 2010: *Characterization of Two Distinct Populations of Epididymosomes Collected in the Intraluminal Compartment of the Bovine Cauda Epididymis*. *Biology of Reproduction*, 83 473-480.
- Frenette G.; Girouard J.; Sullivan R., 2006: *Comparison between epididymosomes collected in the intraluminal compartment of the bovine caput and cauda epididymidis*. *Biology of Reproduction*, 75 885-890.
- Frenette G.; Lessard C.; Madore E.; Fortier M. A.; Sullivan R., 2003: *Aldose reductase and macrophage migration inhibitory factor are associated with epididymosomes and spermatozoa in the bovine epididymis*. *Biology of Reproduction*, 69 1586-1592.

- Frenette G.; Lessard C.; Sullivan R., 2002: *Selected proteins of "prostasome-like particles" from epididymal cauda fluid are transferred to epididymal caput spermatozoa in bull*. *Biology of Reproduction*, 67 308-313.
- Frenette G.; Lessard C.; Sullivan R., 2004: *Polyol pathway along the bovine epididymis*. *Molecular Reproduction and Development*, 69 448-456.
- Frenette G.; Sullivan R., 2001: *Prostasome-like particles are involved in the transfer of P25b from the bovine epididymal fluid to the sperm surface*. *Molecular Reproduction and Development*, 59 115-121.
- Fujihara Y.; Satouh Y.; Inoue N.; Isotani A.; Ikawa M.; Okabe M., 2012: *SPACA1-deficient male mice are infertile with abnormally shaped sperm heads reminiscent of globozoospermia*. *Development*, 139 3583-3589.
- Fukami K.; Nakao K.; Inoue T.; Kataoka Y.; Kurokawa M.; Fissore R. A.; Nakamura K.; Katsuki M.; Mikoshiba K.; Yoshida N.; Takenawa T., 2001: *Requirement of phospholipase Cdelta4 for the zona pellucida-induced acrosome reaction*. *Science*, 292 920-923.
- Gabler C.; Chapman D.; Killian G., 2003: *Expression and presence of osteopontin and integrins in the bovine oviduct during the oestrous cycle*. *Reproduction*, 126 721-729.
- Gabler C.; Killian G. J.; Einspanier R., 2001: *Differential expression of extracellular matrix components in the bovine oviduct during the oestrous cycle*. *Reproduction*, 122 121-130.
- Gandolfi F., 1995: *Functions of proteins secreted by oviduct epithelial-cells*. *Microscopy Research and Technique*, 32 1-12.
- Gatti J. L.; Castella S.; Dacheux F.; Ecroyd H.; Metayer S.; Thimon V.; Dacheux J. L., 2004: *Post-testicular sperm environment and fertility*. *Animal Reproduction Science*, 82-3 321-339.
- Gatti J. L.; Druart X.; Guerin Y.; Dacheux F.; Dacheux J. L., 1999: *A 105- to 94-kilodalton protein in the epididymal fluids of domestic mammals is angiotensin I converting enzyme (ACE); Evidence that sperm are the source of this ACE*. *Biology of Reproduction*, 60 937-945.
- Gatti J. L.; Metayer S.; Belghazi M.; Dacheux F.; Dacheux J. L., 2005: *Identification, proteomic profiling, and origin of ram epididymal fluid exosome-like vesicles*. *Biology of Reproduction*, 72 1452-1465.
- Gebhardt S.; Merkl M.; Herbach N.; Wanke R.; Handler J.; Bauersachs S., 2012: *Exploration of global gene expression changes during the estrous cycle in equine endometrium*. *Biology of Reproduction*, 87 13.

- Geiger M.; Huber K.; Wojta J.; Stingl L.; Espana F.; Griffin J. H.; Binder B. R., 1989: *Complex-formation between urokinase and plasma protein-c inhibitor invitro and invivo*. *Blood*, 74 722-728.
- Gerena R. L.; Killian G. J., 1990: *Electrophoretic characterization of proteins in oviduct fluid of cows during the estrous-cycle*. *Journal of Experimental Zoology*, 256 113-120.
- Girouard J.; Frenette G.; Sullivan R., 2009: *Compartmentalization of Proteins in Epididymosomes Coordinates the Association of Epididymal Proteins with the Different Functional Structures of Bovine Spermatozoa*. *Biology of Reproduction*, 80 965-972.
- Girouard J.; Frenette G.; Sullivan R., 2011: *Comparative proteome and lipid profiles of bovine epididymosomes collected in the intraluminal compartment of the caput and cauda epididymidis*. *International Journal of Andrology*, 34 E475-E486.
- Gmachl M.; Sagan S.; Kreil G.; Ketter S., 1993: *The human sperm protein PH-20 has hyaluronidase activity*. *Febs Letters*, 336 545-548.
- Go K. J.; Wolf D. P., 1985: *Albumin-mediated changes in sperm sterol content during capacitation*. *Biology of Reproduction*, 32 145-153.
- Gómez E.; Caamano J. N.; Corrales F. J.; Diez C.; Correia-Alvarez E.; Martin D.; Trigal B.; Carrocera S.; Mora M. I.; Pello-Palma J.; Moreno J. F.; Muñoz M., 2013: *Embryonic sex induces differential expression of proteins in bovine uterine fluid*. *Journal of Proteome Research*, 12 1199-1210.
- Gottlieb W.; Meizel S., 1987: *Biochemical-studies of metalloendoprotease activity in the spermatozoa of 3 mammalian-species*. *Journal of Andrology*, 8 14-24.
- Gould S. F.; Bernstein M. H., 1975: *Localization of bovine sperm hyaluronidase*. *Differentiation*, 3 123-132.
- Greube A.; Muller K.; Topfer-Petersen E.; Herrmann A.; Muller P., 2001: *Influence of the bovine seminal plasma protein PDC-109 on the physical state of membranes*. *Biochemistry*, 40 8326-8334.
- Griffiths G. S.; Galileo D. S.; Reese K.; Martin-DeLeon P. A., 2008a: *Investigating the role of murine epididymosomes and uterosomes in GPI-linked protein transfer to sperm using SPAM1 as a model*. *Molecular Reproduction and Development*, 75 1627-1636.
- Griffiths G. S.; Miller K. A.; Galileo D. S.; Martin-DeLeon P. A., 2008b: *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.

- Grigorieva A.; Griffiths G.; Zhang H.; Laverty G.; Shao M.; Taylor L.; Martin-DeLeon P., 2007: *Expression of SPAM1 (PH-20) in the murine kidney is not accompanied by hyaluronidase activity: evidence for potential roles in fluid and water reabsorption*. *Kidney and Blood Pressure Research*, 30 145-155.
- Gualtieri R.; Boni R.; Tosti E.; Zagami M.; 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.
- Guyonnet B.; Dacheux F.; Dacheux J. L.; Gatti J. L., 2011: *The Epididymal Transcriptome and Proteome Provide Some Insights Into New Epididymal Regulations*. *Journal of Andrology*, 32 651-664.
- Guyonnet B.; Zabet-Moghaddam M.; SanFrancisco S.; Cornwall G. A., 2012: *Isolation and proteomic characterization of the mouse sperm acrosomal matrix*. *Molecular and Cellular Proteomics*, 11 758-774.
- Gwathmey T. M.; Ignatz G. G.; Mueller J. L.; Manjunath P.; Suarez S. S., 2006: *Bovine seminal plasma proteins PDC-109, BSP-A3, and BSP-30-kDa share functional roles in storing sperm in the oviduct*. *Biology of Reproduction*, 75 501-507.
- Gwathmey T. M.; Ignatz G. G.; Suarez S. S., 2003: *PDC-109 (BSP-A1/A2) promotes bull sperm binding to oviductal epithelium in vitro and may be involved in forming the oviductal sperm reservoir*. *Biology of Reproduction*, 69 809-815.
- Haimov-Kochman R.; Prus D.; Zcharia E.; Goldman-Wohl D. S.; Natanson-Yaron S.; Greenfield C.; Anteby E. Y.; Reich R.; Orly J.; Tsafiriri A.; Hurwitz A.; Vlodavsky I.; Yagel S., 2005: *Spatiotemporal expression of heparanase during human and rodent ovarian folliculogenesis*. *Biology of Reproduction*, 73 20-28.
- Hao J.; Chen M.; Ji S.; Wang X.; Wang Y.; Huang X.; Yang L.; Cui X.; Lv L.; Liu Y.; Gao F., 2014: *Equatorin is not essential for acrosome biogenesis but is required for the acrosome reaction*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 444 537-542.
- Hao Z. L.; Wolkowicz M. J.; Shetty J.; Klotz K.; Bolling L.; Sen B.; Westbrook V. A.; Coonrod S.; Flickinger C. J.; Herr J. C., 2002: *SAMP32, a testis-specific, isoantigenic sperm acrosomal membrane-associated protein*. *Biology of Reproduction*, 66 735-744.
- Hardy D. M.; Garbers D. L., 1994: *Species-specific binding of sperm proteins to the extracellular-matrix (zona-pellucida) of the egg*. *Journal of Biological Chemistry*, 269 19000-19004.
- Harrington D. J.; Lessey B. A.; Rai V.; Bergqvist A.; Kennedy S.; Manek S.; Barlow D. H.; Mardon H. J., 1999: *Tenascin is differentially expressed in endometrium and endometriosis*. *Journal of Pathology*, 187 242-248.

- Hasuwa H.; Muro Y.; Ikawa M.; Kato N.; Tsujimoto Y.; Okabe M., 2010: *Transgenic mouse sperm that have green acrosome and red mitochondria allow visualization of sperm and their acrosome reaction in vivo*. Experimental Animals, 59 105-107.
- Hawk H. W., 1987: *Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle*. Journal of Dairy Science, 70 1487-1503.
- Hawk H. W.; Conley H. H., 1975: *Involvement of cervix in sperm transport failures in reproductive-tract of ewe*. Biology of Reproduction, 13 322-328.
- He S. P.; Lin Y. L.; Liu Y. X., 1999: *Functionally inactive protein C inhibitor in seminal plasma may be associated with infertility*. Molecular Human Reproduction, 5 513-519.
- Heller C. H.; Clermont Y., 1964: *Kinetics of the germinal epithelium in man*. Recent progress in hormone research, 20 545-575.
- Hermans J. M.; Jones R.; Stone S. R., 1994: *Rapid inhibition of the sperm protease acrosin by protein-c inhibitor*. Biochemistry, 33 5440-5444.
- Hermo L.; Jacks D., 2002: *Nature's ingenuity: Bypassing the classical secretory route via apocrine secretion*. Molecular Reproduction and Development, 63 394-410.
- Herrero J.; Valencia A.; Dopazo J., 2001: *A hierarchical unsupervised growing neural network for clustering gene expression patterns*. Bioinformatics, 17 126-136.
- Hess R. A.; de Franca L. R., 2008: *Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium*. Molecular Mechanisms in Spermatogenesis, 636 1-15.
- Heydon R. A.; Adams N. R., 1979: *Comparative morphology and mucus histochemistry of the ruminant cervix - differences between crypt and surface epithelium*. Biology of Reproduction, 21 557-562.
- Hinsch K. D.; Hinsch E.; Meinecke B.; Topferpetersen E.; Pfisterer S.; Schill W. B., 1994: *Identification of mouse zp3 protein in mammalian oocytes with antisera against synthetic zp3 peptides*. Biology of Reproduction, 51 193-204.
- Hochereau M. T., 1963: *Constance des frequences relatives des etudes du cycle de l'epithelium seminifere chez lez taureau et chez le rat*. Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique, 3 93-102.
- Holt W. V., 1984: *Membrane heterogeneity in the mammalian spermatozoon*. International Review of Cytology-a Survey of Cell Biology, 87 159-194.
- Holt W. V.; Fazeli A., 2010: *The oviduct as a complex mediator of mammalian sperm function and selection*. Molecular Reproduction and Development, 77 934-943.

- Honda A.; Siruntawineti J.; Baba T., 2002: *Role of acrosomal matrix proteases in sperm-zona pellucida interactions*. Human Reproduction Update, 8 405-412.
- Howes E.; Pascall J. C.; Engel W.; Jones R., 2001: *Interactions between mouse ZP2 glycoprotein and proacrosin; a mechanism for secondary binding of sperm to the zona pellucida during fertilization*. Journal of Cell Science, 114 4127-4136.
- Hu J.; Chen Y. X.; Wang D.; Qi X. X.; Li T. G.; Hao J.; Mishina Y.; Garbers D. L.; Zhao G. Q., 2004: *Developmental expression and function of Bmp4 in spermatogenesis and in maintaining epididymal integrity*. Developmental Biology, 276 158-171.
- Huang D. H.; Zhang S. W.; Zhao H.; Zhang L., 2011: *The role of C-type natriuretic peptide in rat testes during spermatogenesis*. Asian Journal of Andrology, 13 275-280.
- Huang D. W.; Sherman B. T.; Lempicki R. A., 2009a: *Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists*. Nucleic Acids Research, 37 1-13.
- Huang D. W.; Sherman B. T.; Lempicki R. A., 2009b: *Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources*. Nature Protocols, 4 44-57.
- Huang H. M.; Acuff C. G.; Steinhilber M. E., 1996: *Isolation, mapping, and regulated expression of the gene encoding mouse C-type natriuretic peptide*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 271 H1565-H1575.
- Huarte J.; Belin D.; Bosco D.; Sappino A. P.; Dominiquevassalli J., 1987: *Plasminogen-activator and mouse spermatozoa - urokinase synthesis in the male genital-tract and binding of the enzyme to the sperm cell-surface*. Journal of Cell Biology, 104 1281-1289.
- Hugentobler S. A.; Humpherson P. G.; Leese H. J.; Sreenan J. M.; Morris D. G., 2008: *Energy substrates in bovine oviduct and uterine fluid and blood plasma during the oestrous cycle*. Molecular Reproduction and Development, 75 496-503.
- Hugentobler S.; Sreenan J.; Humpherson P.; Leese H.; Diskin M.; Morris D., 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*. Reproduction, Fertility and Development, 22 684-694.
- Hung P. H.; Suarez S. S., 2010: *Regulation of sperm storage and movement in the ruminant oviduct*. Reproduction in Domestic Ruminants, 67 257-266.
- Hunnicutt G.; Primakoff P.; Myles D., 1996: *Sperm surface protein PH-20 is bifunctional: one activity is a hyaluronidase and a second, distinct activity is*

- required in secondary sperm-zona binding.* Biology of Reproduction, 55 80-86.
- Hunter R. H. F., 1998: *Have the Fallopian tubes a vital rôle in promoting fertility?* Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica, 77 475-486.
- Hunter R. H. F., 1973: *Polyspermic fertilization in pigs after tubal deposition of excessive numbers of spermatozoa.* Journal of Experimental Zoology, 183 57-63.
- Hunter R. H. F., 1981: *Sperm transport and reservoirs in the pig oviduct in relation to the time of ovulation.* Journal of Reproduction and Fertility, 63 109-117.
- Hunter R. H. F., 2005: *The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity?* Reproduction Nutrition Development, 45 281-290.
- Hunter R. H. F., 2012: *Components of oviduct physiology in eutherian mammals.* Biological Reviews, 87 244-255.
- Hunter R. H. F.; Leglise P. C., 1971: *Polyspermic fertilization following tubal surgery in pigs, with particular reference to role of isthmus.* Journal of Reproduction and Fertility, 24 233.
- Hunter R. H. F.; Nichol R., 1983: *Transport of spermatozoa in the sheep oviduct - preovulatory sequestering of cells in the caudal isthmus.* Journal of Experimental Zoology, 228 121-128.
- Hunter R. H. F.; Rodriguez-Martinez H., 2004: *Capacitation of mammalian spermatozoa in vivo, with a specific focus on events in the fallopian tubes.* Molecular Reproduction and Development, 67 243-250.
- Hunter R. H. F.; Wilmut I., 1983: *The rate of functional sperm transport into the oviducts of mated cows.* Animal Reproduction Science, 5 167-173.
- Hunter R. H. F.; Wilmut I., 1984: *Sperm transport in the cow - peri-ovulatory redistribution of viable cells within the oviduct.* Reproduction Nutrition Development, 24 597-608.
- Huo R.; Zhu Y. F.; Ma X.; Lin M.; Zhou Z. M.; Sha J. H., 2004: *Differential expression of glucose-regulated protein 78 during spermatogenesis.* Cell and Tissue Research, 316 359-367.
- Ignotz G.; Cho M.; Suarez S., 2007: *Annexins are candidate oviductal receptors for bovine sperm surface proteins and thus may serve to hold bovine sperm in the oviductal reservoir.* Biology of Reproduction, 77 906-913.
- Ignotz G.; Lo M.; Perez C.; Gwathmey T.; Suarez S., 2001: *Characterization of a fucose-binding protein from bull sperm and seminal plasma that may be responsible*

- for formation of the oviductal sperm reservoir. *Biology of Reproduction*, 64 1806-1811.
- Ijiri T. W.; Merdiushev T.; Cao W. L.; Gerton G. L., 2011: *Identification and validation of mouse sperm proteins correlated with epididymal maturation*. *Proteomics*, 11 4047-4062.
- Ikawa M.; Inoue N.; Benham A. M.; Okabe M., 2010: *Fertilization: a sperm's journey to and interaction with the oocyte*. *Journal of Clinical Investigation*, 120 984-994.
- Ikawa M.; Nakanishi T.; Yamada S.; Wada I.; Kominami K.; Tanaka H.; Nozaki M.; Nishimune Y.; Okabe M., 2001: *Calmegin is required for fertilin alpha/beta heterodimerization and sperm fertility*. *Developmental Biology*, 240 254-261.
- Ikawa M.; Tokuhiko K.; Yamaguchi R.; Benham A. M.; Tamura T.; Wada I.; Satouh Y.; Inoue N.; Okabe M., 2011: *Calsperin Is a Testis-specific Chaperone Required for Sperm Fertility*. *Journal of Biological Chemistry*, 286 5639-5646.
- Inoue N.; Ikawa M.; Isotani A.; Okabe M., 2005: *The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs*. *Nature*, 434 234-238.
- Inoue N.; Satouh Y.; Ikawa M.; Okabe M.; Yanagimachi R., 2011: *Acrosome-reacted mouse spermatozoa recovered from the perivitelline space can fertilize other eggs*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 20008-20011.
- Jackson V.; Chalkley R., 1974: *Binding of estradiol-17beta to bovine endometrial nuclear-membrane*. *Journal of Biological Chemistry*, 249 1615-1626.
- Jaiswal M. K.; Mallers T. M.; Larsen B.; Kwak-Kim J.; Chaouat G.; Gilman-Sachs A.; Beaman K. D., 2012: *V-ATPase upregulation during early pregnancy: a possible link to establishment of an inflammatory response during preimplantation period of pregnancy*. *Reproduction*, 143 713-725.
- Jin M.; Fujiwara E.; Kakiuchi Y.; Okabe M.; Satouh Y.; Baba S. A.; Chiba K.; Hirohashi N., 2011: *Most fertilizing mouse spermatozoa begin their acrosome reaction before contact with the zona pellucida during in vitro fertilization*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 4892-4896.
- Joshi C. S.; Suryawanshi A. R.; Khan S. A.; Balasinor N. H.; Khole V. V., 2013: *Liprin alpha 3: a putative estrogen regulated acrosomal protein*. *Histochemistry and Cell Biology*, 139 535-548.
- Kaji K.; Oda S.; Shikano T.; Ohnuki T.; Uematsu Y.; Sakagami J.; Tada N.; Miyazaki S.; Kudo A., 2000: *The gamete fusion process is defective in eggs of Cd9-deficient mice*. *Nature Genetics*, 24 279-282.

- Kapelnikov A.; Zelinger E.; Gottlieb Y.; Rhissorakrai K.; Gunsalus K. C.; Heifetz Y., 2008: *Mating induces an immune response and developmental switch in the Drosophila oviduct*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105 13912-13917.
- Katz D. F.; Slade D. A.; Nakajima S. T., 1997: *Analysis of pre-ovulatory changes in cervical mucus hydration and sperm penetrability*. Advances in Contraception, 13 143-151.
- Kawano N.; Araki N.; Yoshida K.; Hibino T.; Ohnami N.; Makino M.; Kanai S.; Hasuwa H.; Yoshida M.; Miyado K.; Umezawa A., 2014: *Seminal vesicle protein SVS2 is required for sperm survival in the uterus*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111 4145-4150.
- Kawano N.; Kang W. J.; Yamashita M.; Koga Y.; Yamazaki T.; Hata T.; Miyado K.; Baba T., 2010: *Mice lacking two sperm serine proteases, ACR and PRSS21, are subfertile, but the mutant sperm are infertile in vitro*. Biology of Reproduction, 83 359-369.
- Kerr J. B.; Loveland K. L.; O'Bryan M. K.; de Kretser D. M.; Neill J. D.; Plant T. M.; Pfaff D. W.; Challis J. R. G.; Kretser D. M. d.; Richards J. S.; Wassarman P. M., 2006: Chapter 18 - Cytology of the testis and intrinsic control mechanisms. Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction (Third Edition)*. Academic Press, St Louis, pp. 827-947.
- Killian G. J., 2004: *Evidence for the role of oviduct secretions in sperm function, fertilization and embryo development*. Animal Reproduction Science, 82-3 141-153.
- Killian G. J.; Chapman D. A.; Kavanaugh J. F.; Deaver D. R.; Wiggin H. B., 1989: *Changes in phospholipids, cholesterol and protein-content of oviduct fluid of cows during the estrous-cycle*. Journal of Reproduction and Fertility, 86 419-426.
- Kim K. S.; Cha M. C.; Gerton G. L., 2001: *Mouse sperm protein sp56 is a component of the acrosomal matrix*. Biology of Reproduction, 64 36-43.
- Kim K. S.; Foster J. A.; Kvasnicka K. W.; Gerton G. L., 2011: *Transitional states of acrosomal exocytosis and proteolytic processing of the acrosomal matrix in guinea pig sperm*. Molecular Reproduction and Development, 78 930-941.
- Kirchhoff C., 1996: *CD52 is the 'major maturation-associated' sperm membrane antigen*. Molecular human reproduction, 2 9-17.
- Kobayashi T.; Kaneko T.; Iuchi Y.; Matsuki S.; Takahashi M.; Sasagawa I.; Nakada T.; Fujii J., 2002: *Localization and physiological implication of aldose reductase and sorbitol dehydrogenase in reproductive tracts and spermatozoa of male rats*. Journal of Andrology, 23 674-683.

- Kohno N.; Yamagata K.; Yamada S.; Kashiwabara S.; Sakai Y.; Baba T., 1998: *Two novel testicular serine proteases, TESP1 and TESP2, are present in the mouse sperm acrosome*. Biochemical and Biophysical Research Communications, *245* 658-665.
- König H. E.; Liebich H. G., 2004: *Veterinary anatomy of domestic mammals: textbook and colour atlas*.
- Krapf D.; Ruan Y. C.; Wertheimer E. V.; Battistone M. A.; Pawlak J. B.; Sanjay A.; Pilder S. H.; Cuasnicu P.; Breton S.; Visconti P. E., 2012: *cSrc is necessary for epididymal development and is incorporated into sperm during epididymal transit*. Developmental Biology, *369* 43-53.
- Kumamoto K.; Yang X. Z.; Hasegawa A.; Komori S.; Koyama K., 2009: *CD52 expression is induced in the mouse uterus at the time of embryo implantation*. Journal of Reproductive Immunology, *82* 32-39.
- Kumar S.; Tomar A. K.; Singh S.; Gill K.; Dey S.; Yadav S., 2014: *Heparin binding carboxypeptidase E protein exhibits antibacterial activity in human semen*. International Journal of Biological Macromolecules, *64* 319-327.
- Kumar V.; Yadav V. K.; Hassan M. I.; Singh A. K.; Dey S.; Singh S.; Singh T. P.; Yadav S., 2012: *Kinetic and Structural Studies on the Interactions of Heparin and Proteins of Human Seminal Plasma using Surface Plasmon Resonance*. Protein and Peptide Letters, *19* 795-803.
- Kwon W. S.; Rahman M. S.; Lee J. S.; Kim J.; Yoon S. J.; Park Y. J.; You Y. A.; Hwang S. S.; Pang M. G., 2014: *A comprehensive proteomic approach to identifying capacitation related proteins in boar spermatozoa*. BMC Genomics, *15* 12.
- Lachance C.; Bailey J. L.; Leclerc P., 2007: *Expression of Hsp60 and Grp78 in the human endometrium and oviduct, and their effect on sperm functions*. Human Reproduction, *22* 2606-2614.
- Lachance C.; Fortier M.; Thimon V.; Sullivan R.; Bailey J. L.; Leclerc P., 2010: *Localization of Hsp60 and Grp78 in the human testis, epididymis and mature spermatozoa*. International Journal of Andrology, *33* 33-44.
- Lalancette C.; Dorval V.; Leblanc V.; Leclerc P., 2001: *Characterization of an 80-kilodalton bull sperm protein identified as PH-20*. Biology of Reproduction, *65* 628-636.
- Lapointe J. R.; Kimmins S.; MacLaren L. A.; Bilodeau J. F., 2005: *Estrogen selectively up-regulates the phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in the oviducts*. Endocrinology, *146* 2583-2592.
- Lapointe J.; Bilodeau J. F., 2003: *Antioxidant defenses are modulated in the cow oviduct during the estrous cycle*. Biology of Reproduction, *68* 1157-1164.

- Lapointe S.; Legare C.; Gaudreault C.; Sullivan R.; Sirard M. A., 1998: *cDNA sequence and deduced amino acid sequence of bovine oviductal fluid catalase*. Molecular Reproduction and Development, 51 265-273.
- Larose J.; Laflamme J.; Cote I.; Lapointe J.; Frenette G.; Sullivan R.; Bilodeau J. F., 2012: *The polyol pathway in the bovine oviduct*. Molecular Reproduction and Development, 79 603-612.
- Lathrop W. F.; Carmichael E. P.; Myles D. G.; Primakoff P., 1990: *cDNA cloning reveals the molecular-structure of a sperm surface protein, ph-20, involved in sperm egg adhesion and the wide distribution of its gene among mammals*. Journal of Cell Biology, 111 2939-2949.
- Laurell M.; Christensson A.; Abrahamsson P. A.; Stenflo J.; Lilja H., 1992: *Protein-C inhibitor in human-body fluids - seminal plasma is rich in inhibitor antigen deriving from cells throughout the male reproductive-system*. Journal of Clinical Investigation, 89 1094-1101.
- Lavery K.; Way A.; 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.
- Le Naour F.; Rubinstein E.; Jasmin C.; Prenant M.; Boucheix C., 2000: *Severely reduced female fertility in CD9-deficient mice*. Science, 287 319-321.
- Ledgard A. M.; Lee R. S. F.; Peterson A. J., 2009: *Bovine Endometrial Legumain and TIMP-2 Regulation in Response to Presence of a Conceptus*. Molecular Reproduction and Development, 76 65-74.
- Leese H. J., 1988: *The formation and function of oviduct fluid*. Journal of Reproduction and Fertility, 82 843-856.
- Leese H. J.; Hugentobler S. A.; Gray S. M.; Morris D. G.; Sturmey R. G.; Whitemar S. L.; Sreenan J. M., 2008: *Female reproductive tract fluids: Composition, mechanism of formation and potential role in the developmental origins of health and disease*. Reproduction Fertility and Development, 20 1-8.
- Leese H.; Tay J.; Reischl J.; Downing S., 2001: *Formation of Fallopian tubal fluid: role of a neglected epithelium*. Reproduction, 121 339-346.
- Lefebvre R.; Lo M. C.; Suarez S. S., 1997: *Bovine sperm binding to oviductal epithelium involves fucose recognition*. Biology of Reproduction, 56 1198-1204.
- Li H. Y.; Zhang H., 2013: *Proteome analysis for profiling infertility markers in male mouse sperm after carbon ion radiation*. Toxicology, 306 85-92.

- Li J. J.; Bickel P. J.; Biggin M. D., 2014: *System wide analyses have underestimated protein abundances and the importance of transcription in mammals*. Peerj, 2 26.
- Li J. Y.; Huan Y. J.; Xie B. T.; Wang J. Q.; Zhao Y. H.; Jiao M. X.; Huang T. Q.; Kong Q. R.; Liu Z. H., 2014: *Identification and characterization of an oocyte factor required for sperm decondensation in pig*. Reproduction, 148 367-375.
- Lim L. H. K.; Pervaiz S., 2007: *Annexin 1: the new face of an old molecule*. Faseb Journal, 21 968-975.
- Lin P. F.; Lan X. L.; Chen F. L.; Yang Y. Z.; Jin Y. P.; Wang A. H., 2013: *Reference gene selection for real-time quantitative pcr analysis of the mouse uterus in the peri-implantation period*. Plos One, 8 8.
- 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 1824-1829.
- Lin Y. N.; Roy A.; Yan W.; Burns K. H.; Matzuk M. A., 2007: *Loss of zona pellucida binding proteins in the acrosomal matrix disrupts acrosome biogenesis and sperm morphogenesis*. Molecular and Cellular Biology, 27 6794-6805.
- Lin Y.; Kimmel L. H.; Myles D. G.; Primakoff P., 1993: *Molecular-cloning of the human and monkey sperm surface protein PH-20*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 90 10071-10075.
- Lin Y.; Mahan K.; Lathrop W. F.; Myles D. G.; Primakoff P., 1994: *A hyaluronidase activity of the sperm plasma-membrane protein ph-20 enables sperm to penetrate the cumulus cell layer surrounding the egg*. Journal of Cell Biology, 125 1157-1163.
- Lombard L.; Morgan B. B.; McNutt S. H., 1950: *The morphology of the oviduct of virgin heifers in relation to the estrous cycle*. Journal of Morphology, 86 1-23.
- Lopez C. I.; Pelletan L. E.; Suhaiman L.; De Bias G. A.; Vitale N.; Mayorga L. S.; Belmonte S. A., 2012: *Diacylglycerol stimulates acrosomal exocytosis by feeding into a PKC- and PLD1-dependent positive loop that continuously supplies phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*. Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1821 1186-1199.
- Lovell J. E.; Getty R., 1968: *Fate of semen in uterus of sow - histologic study of endometrium during 27 hours after natural service*. American Journal of Veterinary Research, 29 609.
- Lu P.; Vogel C.; Wang R.; Yao X.; Marcotte E. M., 2007: *Absolute protein expression profiling estimates the relative contributions of transcriptional and translational regulation*. Nature Biotechnology, 25 117-124.

- Lum L.; Blobel C. P., 1997: *Evidence for distinct serine protease activities with a potential role in processing the sperm protein fertilin*. *Developmental Biology*, 191 131-145.
- Luo S. Z.; Mao C. H.; Lee B.; Lee A. S., 2006: *GRP78/BiP is required for cell proliferation and protecting the inner cell mass from apoptosis during early mouse embryonic development*. *Molecular and Cellular Biology*, 26 5688-5697.
- Lv L. X.; Ujisinguleng B.; Orhontana B.; Lian W. B.; Xing W. J., 2011: *Molecular cloning of sheep and cashmere goat Pdia3 and localization in sheep testis*. *Reproduction in Domestic Animals*, 46 980-989.
- Mack S.; Bhattacharyya A. K.; Joyce C.; Vandervan H.; Zaneveld L. J. D., 1983: *Acrosomal enzymes of human-spermatozoa before and after invitro capacitation*. *Biology of Reproduction*, 28 1032-1042.
- Madore E.; Harvey N.; Parent J.; Chapdelaine P.; Arosh J. A.; Fortier M. A., 2003: *An aldose reductase with 20 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase activity is most likely the enzyme responsible for the production of prostaglandin F2 alpha in the bovine endometrium*. *Journal of Biological Chemistry*, 278 11205-11212.
- Majumder G. C.; Turkingt.Rw, 1974: *Acrosomal and lysosomal isoenzymes of beta-galactosidase and n-acetyl-beta-glucosaminidase in rat testis*. *Biochemistry*, 13 2857-2864.
- Malcher A.; Rozwadowska N.; Stokowy T.; Kolanowski T.; Jedrzejczak P.; Zietkowiak W.; Kurpisz M., 2013: *Potential biomarkers of nonobstructive azoospermia identified in microarray gene expression analysis*. *Fertility and Sterility*, 100 1686.
- Mamo S.; Carter F.; Lonergan P.; Leal C. L. V.; Al Naib A.; McGettigan P.; Mehta J. P.; Evans A. C. O.; Fair T., 2011: *Sequential analysis of global gene expression profiles in immature and in vitro matured bovine oocytes: potential molecular markers of oocyte maturation*. *Bmc Genomics*, 12 14.
- Manaskova-Postlerova P.; Davidova N.; Jonakova V., 2011: *Biochemical and binding characteristics of boar epididymal fluid proteins*. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 879 100-106.
- Mandal A.; Klotz K. L.; Shetty J.; Jayes F. L.; Wolkowicz M. J.; Bolling L. C.; Coonrod S. A.; Black M. B.; Diekman A. B.; Haystead T. A. J.; Flickinger C. J.; Herr J. C., 2003: *SLLP1, a unique, intra-acrosomal, non-bacteriolytic, c lysozyme-like protein of human spermatozoa*. *Biology of Reproduction*, 68 1525-1537.
- Manjunath P.; Sairam M., 1987: *Purification and biochemical characterization of three major acidic proteins (BSP-A1, BSP-A2 and BSP-A3) from bovine seminal plasma*. *Biochem J*, 241 685-692.

- Manjunath P.; Soubeyrand S.; Chandonnet L.; Roberts K. D., 1994: *Major proteins of bovine seminal plasma inhibit phospholipase a(2)*. *Biochemical Journal*, *303* 121-128.
- Manjunath P.; Therien I., 2002: *Role of seminal plasma phospholipid-binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation*. *Journal of Reproductive Immunology*, *53* 109-119.
- Mann T.; Lutwak-Mann C., 1981: *Biochemistry of Spermatozoa: Chemical and Functional Correlations in Ejaculated Semen, Andrological Aspect. Male Reproductive Function and Semen*. Springer London, pp. 195-268.
- Mao H. T.; Yang W. X., 2013: *Modes of acrosin functioning during fertilization*. *Genetics and Heredity*, *526* 75-79.
- Marin-Briggiler C. I.; Gonzalez-Echeverria M. F.; Munuce M. J.; Ghersevich S.; Caille A. M.; Hellman U.; Corrigall 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*. *Fertility and Sterility*, *93* 1574-1584.
- Marquez B.; Suarez S. S., 2007: *Bovine sperm hyperactivation is promoted by alkaline-stimulated Ca²⁺ influx*. *Biology of Reproduction*, *76* 660-665.
- Martin-DeLeon P. A., 2006: *Epididymal SPAM1 and its impact on sperm function*. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *250* 114-121.
- Martin-DeLeon P. A., 2011: *Germ-cell hyaluronidases: their roles in sperm function*. *International Journal of Andrology*, *34* 306-318.
- Maselli J.; Hales B. F.; Robaire B., 2014: *Paternal exposure to testis cancer chemotherapeutics alters sperm fertilizing capacity and affects gene expression in the eight-cell stage rat embryo*. *Andrology*, *2* 259-266.
- Mattner P. E., 1968: *Distribution of spermatozoa and leucocytes in female genital tract in goats and cattle*. *Journal of Reproduction and Fertility*, *17* 253.
- McDonald J. K.; Kadkhodayan S., 1988: *Cathepsin I - a latent proteinase in guinea-pig sperm*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *151* 827-835.
- McEntee K., 1990: Chapter 7 - The Uterus: Anatomy. *Reproductive pathology of domestic mammals*. Academic Press, San Diego, pp. 110-117.
- McGee E.; Spears N.; Minami S.; Hsu S. Y.; Chun S. Y.; Billig H.; Hsueh A. J. W., 1997: *Preantral ovarian follicles in serum-free culture: Suppression of apoptosis after activation of the cyclic guanosine 3',5'-monophosphate pathway and stimulation of growth and differentiation by follicle-stimulating hormone*. *Endocrinology*, *138* 2417-2424.

- McRae A. C., 1988: *The blood-uterine lumen barrier and exchange between extracellular fluids*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 82 857-873.
- Meikle A.; Sahlin L.; Ferraris A.; Masironi B.; Blanc J. E.; Rodriguez-Irazaqui M.; Rodriguez-Pinon M.; Kindahl H.; Forsberg M., 2001: *Endometrial mRNA expression of oestrogen receptor alpha, progesterone receptor and insulin-like growth factor-I (IGF-I) throughout the bovine oestrous cycle*. *Animal Reproduction Science*, 68 45-56.
- Merkl M.; Ulbrich S. E.; Otzdorff C.; Herbach N.; Wanke R.; Wolf E.; Handler J.; Bauersachs S., 2010: *Microarray analysis of equine endometrium at days 8 and 12 of pregnancy*. *Biology of Reproduction*, 83 874-886.
- Meyers S. A.; Rosenberger A.; Orpneck K., 2000: *Localization and cellular distribution of a unique hyaluronidase in stallion spermatozoa during epididymal transit*. *Journal of reproduction and fertility*. *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement, 79-86.
- Michaut M.; De Blas G.; Tomes C. N.; Yunes R.; Fukuda M.; Mayorga L. S., 2001: *Synaptotagmin VI participates in the acrosome reaction of human spermatozoa*. *Developmental Biology*, 235 521-529.
- Middendorff R.; Davidoff M. S.; Behrends S.; Mewe M.; Miethens A.; Muller D., 2000: *Multiple roles of the messenger molecule cGMP in testicular function*. *Andrologia*, 32 55-59.
- Middendorff R.; Muller D.; Paust H. J.; Holstein A. F.; Davidoff M. S., 1997: *New aspects of Leydig cell function*. *Fate of the Male Germ Cell*, 424 125-138.
- Miller D. J.; Gong X.; Shur B. D., 1993: *Sperm require beta-N-acetylglucosaminidase to penetrate through the egg zona pellucida*. *Development*, 118 1279-1289.
- Miller D. J.; Winer M. A.; Ax R. L., 1990: *Heparin-binding proteins from seminal plasma bind to bovine spermatozoa and modulate capacitation by heparin*. *Biology of Reproduction*, 42 899-915.
- Miller D.; Brough S.; Alharbi O., 1992: *Characterization and cellular-distribution of human spermatozoal heat-shock proteins*. *Human Reproduction*, 7 637-645.
- Mitchell J. R.; Senger P. L.; Rosenberger J. L., 1985: *Distribution and retention of spermatozoa with acrosomal and nuclear abnormalities in the cow genital-tract*. *Journal of Animal Science*, 61 956-967.
- Mitko K.; Ulbrich S. E.; Wenigerkind H.; Sinowatz F.; Blum H.; Wolf E.; Bauersachs S., 2008: *Dynamic changes in messenger RNA profiles of bovine endometrium during the oestrous cycle*. *Reproduction*, 135 225-240.

- Miyado K.; Yamada G.; Yamada S.; Hasuwa H.; Nakamura Y.; Ryu F.; Suzuki K.; Kosai K.; Inoue K.; Ogura A.; Okabe M.; Mekada E., 2000: *Requirement of CD9 on the egg plasma membrane for fertilization*. *Science*, 287 321-324.
- Mondejar I.; Acuña O. S.; Izquierdo-Rico M. J.; Coy P.; Avilés M., 2012: *The oviduct: functional genomic and proteomic approach*. *Reproduction in Domestic Animals*, 47 22-29.
- Mooney J. K.; Horan A. H.; Lattimer J. K., 1972: *Motility of spermatozoa in human epididymis*. *Journal of Urology*, 108 443.
- Moore A.; Penfold L. M.; Johnson J. L.; Latchman D. S.; Moore H. D. M., 1993: *Human sperm egg binding is inhibited by peptides corresponding to core region of an acrosomal serine protease inhibitor*. *Molecular Reproduction and Development*, 34 280-291.
- Morales C. R.; Badran H.; El-Alfy M.; Men H.; Zhang H.; Martin-DeLeon P. A., 2004: *Cytoplasmic localization during testicular biogenesis of the murine mRNA for Spam1 (PH-20), a protein involved in acrosomal exocytosis*. *Molecular Reproduction and Development*, 69 475-482.
- Morin G.; Lalancette C.; Sullivan R.; Leclerc P., 2005: *Identification of the bull sperm p80 protein as a PH-20 ortholog and its modification during the epididymal transit*. *Molecular Reproduction and Development*, 71 523-534.
- Morin G.; Sullivan R.; Laflamme I.; Robert C.; Leclerc P., 2010: *SPAM1 isoforms from two tissue origins are differentially localized within ejaculated bull sperm membranes and have different roles during fertilization*. *Biology of Reproduction*, 82 271-281.
- Muglia U.; Abbate F.; Correr S.; Germanà G.; Motta P., 1997: *The architecture of the myosalpinx in the sow as revealed by scanning electron microscopy*. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 74 93-98.
- Muñoz M. W.; Ernesto J. I.; Bluguermann C.; Busso D.; Battistone M. A.; Cohen D. J.; Cuasnicu P. S., 2012b: *Evaluation of testicular sperm crisp2 as a potential target for contraception*. *Journal of Andrology*, 33 1360-1370.
- Muñoz M.; Corrales F. J.; Caamano J. N.; Diez C.; Trigal B.; Mora M. I.; Martin D.; Carrocera S.; Gómez E., 2012a: *Proteome of the early embryo-maternal dialogue in the cattle uterus*. *Journal of Proteome Research*, 11 751-766.
- Murdoch R. N.; White I. G., 1968: *Studies of metabolism of human spermatozoa*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 16 351.
- Murray M. K., 1995: *Epithelial lining of the sheep ampulla oviduct undergoes pregnancy-associated morphological-changes in secretory status and cell height*. *Biology of Reproduction*, 53 653-663.

- Myles D.; Primakoff P., 1984: *Localized surface antigens of guinea pig sperm migrate to new regions prior to fertilization*. The Journal of Cell Biology, 99 1634-1641.
- Naaby-Hansen S.; Herr J. C., 2010: *Heat shock proteins on the human sperm surface*. Journal of Reproductive Immunology, 84 32-40.
- Nagdas S. K.; Buchanan T.; Raychoudhury S., 2014: *Identification of peroxiredoxin-5 in bovine cauda epididymal sperm*. Molecular and Cellular Biochemistry, 387 113-121.
- Nahar A.; Kadokawa H., 2014: *Suppressed expression of macrophage migration inhibitory factor in the oviducts of lean and obese cows*. Animal Reproduction Science, 139 1-8
- Nakanishi T.; Ikawa M.; Yamada S.; Parvinen M.; Baba T.; Nishimune Y.; Okabe M., 1999: *Real-time observation of acrosomal dispersal from mouse sperm using GFP as a marker protein*. Febs Letters, 449 277-283.
- Nakanishi T.; Ikawa M.; Yamada S.; Toshimori K.; Okabe M., 2001: *Alkalinization of acrosome measured by GFP as a pH indicator and its relation to sperm capacitation*. Developmental Biology, 237 222-231.
- Nauc V.; Manjunath P., 2000: *Radioimmunoassays for bull seminal plasma proteins (BSP-A1/-A2, BSP-A3, and BSP-30-kilodaltons), and their quantification in seminal plasma and sperm*. Biology of Reproduction, 63 1058-1066.
- Naz R. K.; Rajesh P. B., 2004: *Role of tyrosine phosphorylation in sperm capacitation / acrosome reaction*. Reproductive biology and endocrinology, 2 75.
- Nikolajczyk B. S.; O'Rand M. G., 1992: *Characterization of rabbit testis beta-galactosidase and arylsulfatase A: purification and localization in spermatozoa during the acrosome reaction*. Biology Reproduction, 46 366-378.
- Nimlamool W.; Bean B. S.; Lowe-Krentz L. J., 2013: *Human sperm CRISP2 is released from the acrosome during the acrosome reaction and re-associates at the equatorial segment*. Molecular Reproduction and Development, 80 488-502.
- Nishimura H.; Kim E.; Nakanishi T.; Baba T., 2004: *Possible function of the ADAM1a/ADAM2 fertilin complex in the appearance of ADAM3 on the sperm surface*. Journal of Biological Chemistry, 279 34957-34962.
- Nixon B.; Aitken R. J.; McLaughlin E. A., 2007: *New insights into the molecular mechanisms of sperm-egg interaction*. Cellular and Molecular Life Sciences, 64 1805-1823.

- Noland T. D.; Friday B. B.; Maulit M. T.; Gerton G. L., 1994: *The sperm acrosomal matrix contains a novel member of the pentaxin family of calcium-dependent binding-proteins*. Journal of Biological Chemistry, 269 32607-32614.
- Novak S.; Treacy B. K.; Almeida F.; Mao J.; Buhi W. C.; Dixon W. T.; Foxcroft G. R., 2002: *Regulation of IGF-I and porcine oviductal secretory protein (pOSP) secretion into the pig oviduct in the peri-ovulatory period, and effects of previous nutrition*. Reproduction Nutrition Development, 42 355-372.
- O'Donnell L.; Robertson K. M.; Jones M. E.; Simpson E. R., 2001: *Estrogen and spermatogenesis*. Endocrine Reviews, 22 289-318.
- O'Flaherty C.; de Lamirande E.; Gagnon C., 2006: *Positive role of reactive oxygen species in mammalian sperm capacitation: Triggering and modulation of phosphorylation events*. Free Radical Biology and Medicine, 41 528-540.
- Oh J.; Woo J. M.; Choi E. Y.; Kim T.; Cho B. N.; Park Z. Y.; Kim Y. C.; Kim D. H.; Cho C. H., 2005: *Molecular, biochemical, and cellular characterization of epididymal ADAMS, ADAM7 and ADAM28*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 331 1374-1383.
- Ohmura K.; Kohno N.; Kobayashi Y.; Yamagata R.; Sato S.; Kashiwabara S.; Baba T., 1999: *A homologue of pancreatic trypsin is localized in the acrosome of mammalian sperm and is released during acrosome reaction*. Journal of Biological Chemistry, 274 29426-29432.
- Okabe M., 2014: *Mechanism of Fertilization: A Modern View*. Experimental Animals, 63 357-365.
- Olson G. E.; Winfrey V. P.; Bi M.; Hardy D. M.; NagDas S. K., 2004: *Zonadhesin assembly into the hamster sperm acrosomal matrix occurs by distinct targeting strategies during spermiogenesis and maturation in the epididymis*. Biology of Reproduction, 71 1128-1134.
- Orimoto A. M.; Dumaresq-Doiron K.; Jiang J. Y.; Tanphaichitr N.; Tsang B. K.; Carmona E., 2008: *Mammalian hyaluronidase induces ovarian granulosa cell apoptosis and is involved in follicular atresia*. Endocrinology, 149 5835-5847.
- Ota K.; Jaiswal M. K.; Ramu S.; Jeyendran R.; Kwak-Kim J.; Gilman-Sachs A.; Beaman K. D., 2013: *Expression of a2 vacuolar ATPase in spermatozoa is associated with semen quality and chemokine-cytokine profiles in infertile men*. Plos One, 8 7.
- Panicker G.; Ye Y.; Wang D.; Unger E. R., 2010: *Characterization of the Human Cervical Mucous Proteome*. Clinical Proteomics, 6 18-28.
- Park K.; Jeon S.; Song Y. J.; Yi L. S. H., 2012: *Proteomic analysis of boar spermatozoa and quantity changes of superoxide dismutase 1, glutathione peroxidase, and*

- peroxiredoxin 5 during epididymal maturation*. *Animal Reproduction Science*, 135 53-61.
- Park Y. J.; Kim J.; You Y. A.; Pang M. G., 2013: *Proteomic revolution to improve tools for evaluating male fertility in animals*. *Journal of Proteome Research*, 12 4738-4747.
- Parrish J. J., 2014: *Bovine in vitro fertilization: In vitro oocyte maturation and sperm capacitation with heparin*. *Theriogenology*, 81 67-73.
- Parrish J. J.; Susko-Parrish J. L.; Graham J. K., 1999: *In vitro capacitation of bovine spermatozoa: Role of intracellular calcium*. *Theriogenology*, 51 461-472.
- Parrish J. J.; Suskoparrish J. L.; Handrow R. R.; Sims M. M.; First N. L., 1989: *Capacitation of bovine spermatozoa by oviduct fluid*. *Biology of Reproduction*, 40 1020-1025.
- Parrish J. J.; Suskoparrish J. L.; Uguz C.; First N. L., 1994: *Differences in the role of cyclic adenosine-3',5'-monophosphate during capacitation of bovine sperm by heparin or oviduct fluid*. *Biology of Reproduction*, 51 1099-1108.
- Patrat C.; Serres C.; Jouannet P., 2000: *The acrosome reaction in human spermatozoa*. *Biology of the Cell*, 92 255-266.
- Pesch S.; Bergmann M., 2006: *Structure of mammalian spermatozoa in respect to viability, fertility and cryopreservation*. *Micron*, 37 597-612.
- Petit F. M.; Serres C.; Bourgeon F.; Pineau C.; Auer J., 2013: *Identification of sperm head proteins involved in zona pellucida binding*. *Human Reproduction*, 28 852-865.
- Phelps B. M.; Koppel D. E.; Primakoff P.; Myles D. G., 1990: *Evidence that proteolysis of the surface is an initial step in the mechanism of formation of sperm cell-surface domains*. *Journal of Cell Biology*, 111 1839-1847.
- Phelps B.; Myles D., 1987: *The guinea pig sperm plasma membrane protein, PH-20, reaches the surface via two transport pathways and becomes localized to a domain after an initial uniform distribution*. *Developmental Biology*, 123 63-72.
- Pholpramool C.; Zupp J. L.; Setchell B. P., 1985: *Motility of undiluted bull epididymal spermatozoa collected by micropuncture*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 75 413-420.
- Pierson R. A.; Ginther O. J., 1987: *Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous-cycle*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 190 995-1001.

- Pilch B.; Mann M., 2006: *Large-scale and high-confidence proteomic analysis of human seminal plasma*. *Genome Biology*, 7 10.
- Pluta K.; Irwin J. A.; Dolphin C.; Richardson L.; Fitzpatrick E.; Gallagher M. E.; Reid C. J.; Crowe M. A.; Roche J. F.; Lonergan P.; Carrington S. D.; Evans A. C. O., 2011: *Glycoproteins and glycosidases of the cervix during the periestrous period in cattle*. *Journal of Animal Science*, 89 4032-4042.
- Pluta K.; McGettigan P. A.; Reid C. J.; Browne J. A.; Irwin J. A.; Tharmalingam T.; Corfield A.; Baird A.; Loftus B. J.; Evans A. C. O.; Carrington S. D., 2012: *Molecular aspects of mucin biosynthesis and mucus formation in the bovine cervix during the periestrous period*. *Physiological Genomics*, 44 1165-1178.
- Polakoski K. L.; Parrish R. F., 1977: *Boar proacrosin - purification and preliminary activation studies of proacrosin isolated from ejaculated boar sperm*. *Journal of Biological Chemistry*, 252 1888-1894.
- Pollard J. W.; Plante C.; King W. A.; Hansen P. J.; Betteridge K. J.; Suarez S. S., 1991: *Fertilizing-capacity of bovine sperm may be maintained by binding to oviductal epithelial-cells*. *Biology of Reproduction*, 44 102-107.
- Primakoff P.; Hyatt H.; Myles D. G., 1985: *A role for the migrating sperm surface-antigen PH-20 in guinea-pig sperm binding to the egg zona pellucida*. *Journal of Cell Biology*, 101 2239-2244.
- Puglisi R.; Cambuli C.; Capoferri R.; Giannino L.; Lukaj A.; Duchi R.; Lazzari G.; Galli C.; Feligini M.; Galli A.; Bongioni G., 2013: *Differential gene expression in cumulus oocyte complexes collected by ovum pick up from repeat breeder and normally fertile Holstein Friesian heifers*. *Animal Reproduction Science*, 141 26-33.
- Puglisi R.; Tramer F.; Carlomagno G.; Gandini L.; Panfili E.; Stefanini M.; Lenzi A.; Mangia F.; Boitani C., 2005: *PHGPx in spermatogenesis: how many functions?* *Contraception*, 72 291-293.
- Pursel V. G.; Schulman L. L.; Johnson L. A., 1978: *Distribution and morphology of fresh and frozen-thawed sperm in reproductive-tract of gilts after artificial-insemination*. *Biology of Reproduction*, 19 69-76.
- Raheem K. A.; Marei W. F.; Mifsud K.; Khalid M.; Wathes D. C.; Fouladi-Nashta A. A., 2013: *Regulation of the hyaluronan system in ovine endometrium by ovarian steroids*. *Reproduction*, 145 491-504.
- Rath D.; Schuberth H. J.; Coy P.; Taylor U., 2008: *Sperm Interactions from Insemination to Fertilization*. *Reproduction in Domestic Animals*, 43 2-11.
- Rattanachaiyanont M.; Weerachayanukul W.; Leveille M. C.; Taylor T.; D'Amours D.; Rivers D.; Leader A.; Tanphaichitr N., 2001: *Anti-SLIP1-reactive proteins exist*

- on human spermatozoa and are involved in zona pellucida binding. Molecular Human Reproduction, 7* 633-640.
- Ravnik S. E.; Albers J. J.; Muller C. H., 1995: *Stimulation of human sperm capacitation by purified lipid transfer protein. Journal of Experimental Zoology, 272* 78-83.
- Redgrove K. A.; Anderson A. L.; McLaughlin E. A.; O'Bryan M. K.; Aitken R. J.; Nixon B., 2013: *Investigation of the mechanisms by which the molecular chaperone HSPA2 regulates the expression of sperm surface receptors involved in human spermoocyte recognition. Molecular Human Reproduction, 19* 120-135.
- Redgrove K. A.; Nixon B.; Baker M. A.; Hetherington L.; Baker G.; Liu D. Y.; Aitken R. J., 2012: *The molecular chaperone HSPA2 plays a key role in regulating the expression of sperm surface receptors that mediate sperm-egg recognition. Plos One, 7* 16.
- Rejraji H.; Sion B.; Prensier G.; Carreras M.; Motta C.; Frenoux J. M.; Vericel E.; Grizard G.; Vernet P.; Drevet J. R., 2006: *Lipid remodeling of murine epididymosomes and spermatozoa during epididymal maturation. Biology of Reproduction, 74* 1104-1113.
- Rempel L. A.; Freking B. A.; Miles J. R.; Nonneman D. J.; Rohrer G. A.; Schneider J. F.; Vallet J. L., 2011: *Association of porcine heparanase and hyaluronidase 1 and 2 with reproductive and production traits in a landrace-duroc-yorkshire population. Frontiers in genetics, 2* 20.
- Rescher U.; Gerke V., 2004: *Annexins - unique membrane binding proteins with diverse functions. Journal of Cell Science, 117* 2631-2639.
- Rios M.; Carreno D. V.; Oses C.; Barrera N.; Kerr B.; Villalon M., 2014: *Low physiological levels of prostaglandins E2 and F2alpha improve human sperm functions. Reproduction, Fertility and Development.*
- Robaire B.; Hinton B. T.; Orgebin-Crist M.-C.; Neill J. D.; Plant T. M.; Pfaff D. W.; Challis J. R. G.; Kretser D. M. d.; Richards J. S.; Wassarman P. M., 2006: Chapter 22 - The Epididymis. Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction (Third Edition)*. Academic Press, St Louis, pp. 1071-1148.
- Roberts G. P.; Parker J. M., 1974: *Macromolecular components of luminal fluid from bovine uterus. Journal of Reproduction and Fertility, 40* 291.
- Roberts G. P.; Parker J. M.; Symonds H. W., 1975: *Proteins in luminal fluid from bovine oviduct. Journal of Reproduction and Fertility, 45* 301-313.
- Rodriguez-Martinez H., 2007: *Role of the oviduct in sperm capacitation. Theriogenology, 68 Supplement 1* S138-146.

- Rodriguez-Martinez H.; Nicander L.; Viring S.; Einarsson S.; Larsson K., 1990: *Ultrastructure of the uterotubal junction in preovulatory pigs*. *Anatomia Histologia Embryologia-Journal of Veterinary Medicine Series C-Zentralblatt Fur Veterinarmedizin Reihe C*, 19 16-36.
- Rodriguez-Martinez H.; Saravia F.; Wallgren M.; Tienthai P.; Johannisson A.; Vazquez J. M.; Martinez E.; Roca J.; Sanz L.; Calvete J. J., 2005: *Boar spermatozoa in the oviduct*. *Theriogenology*, 63 514-535.
- Romero-AguirreGómezcorta J.; Matas C.; Coy P., 2015: *Alpha-L-fucosidase enhances capacitation-associated events in porcine spermatozoa*. *Veterinary Journal*, 203 109-114.
- Rooney I. A.; Heuser J. E.; Atkinson J. P., 1996: *GPI-anchored complement regulatory proteins in seminal plasma - An analysis of their physical condition and the mechanisms of their binding to exogenous cells*. *Journal of Clinical Investigation*, 97 1675-1686.
- Roy M.; Gauvreau D.; Bilodeau J. F., 2008: *Expression of superoxide dismutases in the bovine oviduct during the estrous cycle*. *Theriogenology*, 70 836-842.
- Sakaue T.; Takeuchi K.; Maeda T.; Yamamoto Y.; Nishi K.; Ohkubo I., 2010: *Factor H in porcine seminal plasma protects sperm against complement attack in genital tracts*. *Journal of Biological Chemistry*, 285 2184-2192.
- Salamonsen L. A.; Hannan N. J.; Dimitriadis E., 2007: *Cytokines and chemokines during human embryo implantation: Roles in implantation and early placentation*. *Seminars in Reproductive Medicine*, 25 437-444.
- Salicioni A. M.; Platt M. D.; Wertheimer E. V.; Arcelay E.; Allaire A.; Sosnik J.; Visconti P. E., 2007: *Signalling pathways involved in sperm capacitation*. *Society of Reproduction and Fertility Supplement*, 65 245-259.
- Saxena D. K.; Tanii I.; Yoshinaga K.; Toshimori K., 1999: *Role of intra-acrosomal antigenic molecules acrin 1 (MN7) and acrin 2 (MC41) in penetration of the zona pellucida in fertilization in mice*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 117 17-25.
- Schenk M.; Koppisetty C. A.; Santos D. C.; Carmona E.; Bhatia S.; Nyholm P. G.; Tanphaichitr N., 2009: *Interaction of arylsulfatase-A (ASA) with its natural sulfoglycolipid substrates: a computational and site-directed mutagenesis study*. *Glycoconjugate Journal*, 26 1029-1045.
- Schwanhauser B.; Busse D.; Li N.; Dittmar G.; Schuchhardt J.; Wolf J.; Chen W.; Selbach M., 2011: *Global quantification of mammalian gene expression control*. *Nature*, 473 337-342.

- Seytanoglu A.; Georgiou A. S.; Sostaric E.; Watson P. F.; Holt W. V.; Fazeli A., 2008: *Oviductal cell proteome alterations during the reproductive cycle in pigs*. Journal of Proteome Research, 7 2825-2833.
- Shemesh M., 2001: *Actions of gonadotrophins on the uterus*. Reproduction, 121 835-842.
- Shetty J.; Wolkowicz M. J.; Digilio L. C.; Klotz K. L.; Jayes F. L.; Diekman A. B.; Westbrook V. A.; Farris E. M.; Hao Z. L.; Coonrod S. A.; Flickinger C. J.; Herr J. C., 2003: *SAMP14, a novel, acrosomal membrane-associated, glycosylphosphatidylinositol-anchored member of the Ly-6/urokinase-type plasminogen activator receptor superfamily with a role in sperm-egg interaction*. Journal of Biological Chemistry, 278 30506-30515.
- Shimizu T.; Krebs S.; Bauersachs S.; Blum H.; Wolf E.; Miyamoto A., 2010: *Actions and interactions of progesterone and estrogen on transcriptome profiles of the bovine endometrium*. Physiological Genomics, 42A 290-300.
- Simmons D. G.; Kennedy T. G., 2000: *Induction of glucose-regulated protein 78 in rat uterine glandular epithelium during uterine sensitization for the decidual cell reaction*. Biology of Reproduction, 62 1168-1176.
- Simons K.; Ikonen E., 1997: *Functional rafts in cell membranes*. Nature, 387 569-572.
- Song X. X.; Park C. K.; Piao Y. J.; Niwa K., 2007: *Effect of monosaccharide L-fucose and polysaccharide fucoidan on sperm alpha-L-fucosidase activity and relation to sperm-oocyte interaction in pig*. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 20 351-358.
- Sostaric E.; Georgiou A. S.; Wong C. H.; Watson P. F.; Holt W. V.; Fazeli A., 2006: *Global profiling of surface plasma membrane proteome of oviductal epithelial cells*. Journal of Proteome Research, 5 3029-3037.
- Soubeyrand S.; Manjunath P., 1997: *Novel seminal phospholipase A(2) is inhibited by the major proteins of bovine seminal plasma*. Biochimica Et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology, 1341 183-188.
- Spencer T. E.; Johnson G. A.; Burghardt R. C.; Bazer F. W., 2004: *Progesterone and placental hormone actions on the uterus: Insights from domestic animals*. Biology of Reproduction, 71 2-10.
- Srivastava P. N.; Ninjoor V., 1982: *Isolation of rabbit testicular cathepsin-d and its role in the activation of proacrosin*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 109 63-69.
- Stanke D. F.; Sikes J. D.; Deyoung D. W.; Tumbleso.Me, 1974: *Proteins and amino-acids in bovine oviducal fluid*. Journal of Reproduction and Fertility, 38 493-496.

- Suarez S. S., 2008: *Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct*. International Journal of Developmental Biology, 52 455-462.
- Suarez S. S.; Ho H. C., 2003: *Hyperactivated motility in sperm*. Reproduction in Domestic Animals, 38 119-124.
- Suarez S. S.; Neill J. D.; Plant T. M.; Pfaff D. W.; Challis J. R. G.; Kretser D. M. d.; Richards J. S.; Wassarman P. M., 2006: Chapter 3 - Gamete and Zygote Transport. Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction (Third Edition)*. Academic Press, St Louis, pp. 113-145.
- Suarez S. S.; Oliphant G., 1982: *interaction of rabbit spermatozoa and serum complement components*. Biology of Reproduction, 27 473-483.
- Suarez S. S.; Pacey A. A., 2006: *Sperm transport in the female reproductive tract*. Human Reproduction Update, 12 23-37.
- Suarez S.; Brockman K.; Lefebvre R., 1997: *Distribution of mucus and sperm in bovine oviducts after artificial insemination: the physical environment of the oviductal sperm reservoir*. Biology of Reproduction, 56 447-453.
- Sullivan R.; Saez F., 2013: *Epididymosomes, prostasomes, and liposomes: their roles in mammalian male reproductive physiology*. Reproduction, 146 R21-R35.
- Sun T.; Lei Z. M.; Rao C. V., 1997: *A novel regulation of the oviductal glycoprotein gene expression by luteinizing hormone in bovine tubal epithelial cells*. Molecular and Cellular Endocrinology, 131 97-108.
- Suryawanshi A. R.; Khan S. A.; Joshi C. S.; Khole V. V., 2012: *Epididymosome-mediated acquisition of MMSDH, an androgen-dependent and developmentally regulated epididymal sperm protein*. Journal of Andrology, 33 963-974.
- Sutovsky P.; Moreno R.; Ramalho-Santos J.; Dominko T.; Winston W. E.; Schatten G., 2001: *A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis*. Journal of Cell Science, 114 1665-1675.
- Swierstra E. E., 1968: *Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididymis*. Anatomical Record, 161 171-185.
- Swierstra E. E.; Foote R. H., 1963: *Cytology and kinetics of spermatogenesis in the rabbit*. Journal of reproduction and fertility, 5 309-322.
- Takahashi M.; Fujii J.; Miyoshi E.; Hoshi A.; Taniguchi N., 1995: *Elevation of aldose reductase gene-expression in rat primary hepatoma and hepatoma-cell lines - implication in detoxification of cytotoxic aldehydes*. International Journal of Cancer, 62 749-754.

- Talbot P., 1985: *Sperm penetration through oocyte investments in mammals*. American Journal of Anatomy, 174 331-346.
- Talbot P.; Geiske C.; Knoll M., 1999: *Oocyte pickup by the mammalian oviduct*. Molecular Biology of the Cell, 10 5-8.
- Talbot P.; Shur B. D.; Myles D. G., 2003: *Cell adhesion and fertilization: Steps in oocyte transport, sperm-zona pellucida interactions, and sperm-egg fusion*. Biology of Reproduction, 68 1-9.
- Tanii I.; Oh-oka T.; Yoshinaga K.; Toshimori K., 2001: *A mouse acrosomal cortical, matrix protein, MC41, has ZP2-binding activity and forms a complex with a 75-kDa serine protease*. Developmental Biology, 238 332-341.
- Tanwar P. S.; McFarlane J. R., 2011: *Dynamic expression of bone morphogenetic protein 4 in reproductive organs of female mice*. Reproduction, 142 573-579.
- Tardif S.; Cormier N., 2011: *Role of zonadhesin during sperm-egg interaction: a species-specific acrosomal molecule with multiple functions*. Molecular Human Reproduction, 17 661-668.
- Tardif S.; Guyonnet B.; Cormier N.; Cornwall G. A., 2012: *Alteration in the processing of the ACRBP/sp32 protein and sperm head/acrosome malformations in proprotein convertase 4 (PCSK4) null mice*. Molecular Human Reproduction, 18 298-307.
- Taylor U.; Rath D.; Zerbe H.; Schuberth H. J., 2008: *Interaction of intact porcine spermatozoa with epithelial cells and neutrophilic granulocytes during uterine passage*. Reproduction in Domestic Animals, 43 166-175.
- Teijeiro J. M.; Igotz G. G.; Marini P. E., 2009: *Annexin A2 is in pig (sus scrofa) sperm-oviduct interaction*. Molecular Reproduction and Development, 76 334-341.
- Thaler C.; Cardullo R., 1995: *Biochemical characterization of a glycosylphosphatidylinositol-linked hyaluronidase on mouse sperm*. Biochemistry, 34 7788-7795.
- Therien I.; Bleau G.; Manjunath P., 1995: *Phosphatidylcholine-binding proteins of bovine seminal plasma modulate capacitation of spermatozoa by heparin*. Biology of Reproduction, 52 1372-1379.
- Therien I.; Moreau R.; Manjunath P., 1998: *Major proteins of bovine seminal plasma and high-density lipoprotein induce cholesterol efflux from epididymal sperm*. Biology of Reproduction, 59 768-776.
- Therien I.; Soubeyrand S.; Manjunath P., 1997: *Major proteins of bovine seminal plasma modulate sperm capacitation by high-density lipoprotein*. Biology of Reproduction, 57 1080-1088.

- Tienthai P.; Johannisson A.; Rodriguez-Martinez H., 2004: *Sperm capacitation in the porcine oviduct*. *Animal Reproduction Science*, *80* 131-146.
- Tokuhiro K.; Ikawa M.; Benham A. M.; Okabe M., 2012: *Protein disulfide isomerase homolog PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male infertility*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109* 3850-3855.
- Tone A. A.; Begley H.; Sharma M.; Murphy J.; Rosen B.; Brown T. J.; Shaw P. A., 2008: *Gene expression profiles of luteal phase fallopian tube epithelium from BRCA mutation carriers resemble high-grade serous carcinoma*. *Clinical Cancer Research*, *14* 4067-4078.
- Travis A. J.; Kopf G. S., 2002: *The role of cholesterol efflux in regulating the fertilization potential of mammalian spermatozoa*. *Journal of Clinical Investigation*, *110* 731-736.
- Tulsiani D. R.; Abou-Haila A.; Loeser C. R.; Pereira B. M., 1998: *The biological and functional significance of the sperm acrosome and acrosomal enzymes in mammalian fertilization*. *Experimental Cell Research*, *240* 151-164.
- Turunen H. T.; Sipila P.; Krutskikh A.; Toivanen J.; Mankonen H.; Hamalainen V.; Bjorkgren I.; Huhtaniemi I.; Poutanen M., 2012: *Loss of cysteine-rich secretory protein 4 (crisp4) leads to deficiency in sperm-zona pellucida interaction in mice*. *Biology of Reproduction*, *86* 8.
- Ueda Y.; Yamaguchi R.; Ikawa M.; Okabe M.; Morii E.; Maeda Y.; Kinoshita T., 2007: *PGAP1 knockout mice show otocephaly and male infertility*. *Journal of Biological Chemistry*, *282* 30373-30380.
- Uhrin P.; Dewerchin M.; Hilpert M.; Chrenek P.; Schofer C.; Zechmeister-Machhart M.; Kronke G.; Vales A.; Carmeliet P.; Binder B. R.; Geiger M., 2000: *Disruption of the protein C inhibitor gene results in impaired spermatogenesis and male infertility*. *Journal of Clinical Investigation*, *106* 1531-1539.
- Uhrin P.; Schofer C.; Zaujec J.; Ryban L.; Hilpert M.; Weipoltshammer K.; Jerabek I.; Pirtzkall I.; Furtmuller M.; Dewerchin M.; Binder B. R.; Geiger M., 2007: *Male fertility and protein C inhibitor/plasminogen activator inhibitor-3 (PCI): localization of PCI in mouse testis and failure of single plasminogen activator knockout to restore spermatogenesis in PCI-deficient mice*. *Fertility and Sterility*, *88* 1049-1057.
- Vandreden P.; Gonzales J.; Poirrot C., 1991: *Human seminal fibrinolytic-activity - specific determinations of tissue plasminogen-activator and urokinase*. *Andrologia*, *23* 29-33.
- Verhage H. G.; Fazleabas A. T.; Donnelly K., 1988: *The invitro synthesis and release of proteins by the human oviduct*. *Endocrinology*, *122* 1639-1645.

- Vilagran I.; Castillo J.; Bonet S.; Sancho S.; Yeste M.; Estanyol J. M.; Oliva R., 2013: *Acrosin-binding protein (ACRBP) and triosephosphate isomerase (TPI) are good markers to predict boar sperm freezing capacity*. *Theriogenology*, *80* 443-450.
- Vincze O.; Tokesi N.; Olah J.; Hlavanda E.; Zotter A.; Horvath I.; Lehotzky A.; Tirian L.; Medzihradzsky K. F.; Kovacs J.; Orosz F.; Ovadi J., 2006: *Tubulin polymerization promoting proteins (TPPPs): Members of a new family with distinct structures and functions*. *Biochemistry*, *45* 13818-13826.
- Vines C.; Li M.; Deng X.; Yudin A.; Cherr G.; Overstreet J., 2001: *Identification of a hyaluronic acid (HA) binding domain in the PH-20 protein that may function in cell signaling*. *Molecular Reproduction and Development*, *60* 542-552.
- Visconti P. E.; Bailey J. L.; Moore G. D.; Pan D. Y.; Oldsclarke P.; Kopf G. S., 1995: *Capacitation of mouse spermatozoa .1. correlation between the capacitation state and protein-tyrosine phosphorylation*. *Development*, *121* 1129-1137.
- Visconti P. E.; Galantino-Homer H.; Moore G. D.; Bailey J. L.; Ning X. P.; Fornes M.; Kopf G. S., 1998: *The molecular basis of sperm capacitation*. *Journal of Andrology*, *19* 242-248.
- Visconti P. E.; Hao Z. L.; Purdon M. A.; Stein P.; Balsara B. R.; Testa J. R.; Herr J. C.; Moss S. B.; Kopf G. S., 2001: *Cloning and chromosomal localization of a gene encoding a novel serine/threonine kinase belonging to the subfamily of testis-specific kinases*. *Genomics*, *77* 163-170.
- Visconti P. E.; Westbrook V. A.; Chertihin O.; Demarco I.; Sleight S.; Diekman A. B., 2002: *Novel signaling pathways involved in sperm acquisition of fertilizing capacity*. *Journal of Reproductive Immunology*, *53* 133-150.
- Visconti P., 2009: *Understanding the molecular basis of sperm capacitation through kinase design*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106* 667-668.
- Vogel C.; Abreu R. D.; Ko D. J.; Le S. Y.; Shapiro B. A.; Burns S. C.; Sandhu D.; Boutz D. R.; Marcotte E. M.; Penalva L. O., 2010: *Sequence signatures and mRNA concentration can explain two-thirds of protein abundance variation in a human cell line*. *Molecular Systems Biology*, *6* 9.
- Volpi N.; Schiller J.; Stern R.; Soltes L., 2009: *Role, Metabolism, Chemical Modifications and Applications of Hyaluronan*. *Current Medicinal Chemistry*, *16* 1718-1745.
- Wait R.; Miller I.; Eberini I.; Cairoli F.; Veronesi C.; Battocchio M.; Gemeiner M.; Gianazza E., 2002: *Strategies for proteomics with incompletely characterized genomes: The proteome of Bos taurus serum*. *Electrophoresis*, *23* 3418-3427.

- Walsh A.; Whelan D.; Bielanowicz A.; Skinner B.; Aitken R. J.; O'Bryan M. K.; Nixon B., 2008: *Identification of the molecular chaperone, heat shock protein 1 (chaperonin 10), in the reproductive tract and in capacitating spermatozoa in the male mouse*. *Biology of Reproduction*, 78 983-993.
- Wang B. T.; Goff A. K., 2003: *Interferon-tau stimulates secretion of macrophage migration inhibitory factor from bovine endometrial epithelial cells*. *Biology of Reproduction*, 69 1690-1696.
- Webb R.; Nicholas B.; Gong J. G.; Campbell B. K.; Gutierrez C. G.; Garverick H. A.; Armstrong D. G., 2003: *Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle*. *Reproduction (Cambridge, England) Supplement*, 61 71-90.
- Wei Y. H.; Wang X. L.; Fu G. L.; Yu L., 2013: *Testis specific serine/threonine kinase 4 (Tssk4) maintains its kinase activity by phosphorylating itself at Thr-197*. *Molecular Biology Reports*, 40 439-447.
- Willems P. J.; Seo H. C.; Coucke P.; Tonlorenzi R.; O'Brien J. S., 1999: *Spectrum of mutations in fucosidosis*. *European Journal of Human Genetics*, 7 60-67.
- Williams A. C.; Ford W. C. L., 2005: *Relationship between reactive oxygen species production and lipid peroxidation in human sperm suspensions and their association with sperm function*. *Fertility and Sterility*, 83 929-936.
- Wilmot I.; Hunter R. H. F., 1984: *Sperm transport into the oviducts of heifers mated early in estrus*. *Reproduction Nutrition Development*, 24 461-468.
- Wira C. R.; Sandoe C. P., 1977: *Sex steroid-hormone regulation of iga and igg in rat uterine secretions*. *Nature*, 268 534-536.
- Wolkowicz M. J.; Shetty J.; Westbrook A.; Klotz K.; Jayes F.; Mandal A.; Flickinger C. J.; Herr J. C., 2003: *Equatorial segment protein defines a discrete acrosomal subcompartment persisting throughout acrosomal biogenesis*. *Biology of Reproduction*, 69 735-745.
- Wright R. M.; John E.; Klotz K.; Flickinger C. J.; Herr J. C., 1990: *Cloning and sequencing of cdnas coding for the human intraacrosomal antigen sp-10*. *Biology of Reproduction*, 42 693-701.
- Wrobel K. H.; Kujat R.; Fehle G., 1993: *The bovine tubouterine junction - general organization and surface-morphology*. *Cell and Tissue Research*, 271 227-239.
- Wu A.; Anupriwan A.; Iamsaard S.; Chakrabandhu K.; Santos D. C.; Rupar T.; Tsang B. K.; Carmona E.; Tanphaichitr N., 2007: *Sperm surface arylsulfatase a can disperse the cumulus matrix of cumulus oocyte complexes*. *Journal of Cellular Physiology*, 213 201-211.

- Xu H.; Liu F.; Srakaew N.; Koppisetty C.; Nyholm P. G.; Carmona E.; Tanphaichitr N., 2012: *Sperm arylsulfatase A binds to mZP2 and mZP3 glycoproteins in a nonenzymatic manner*. *Reproduction*, 144 209-219.
- Yamada O.; Todoroki J.; Takahashi T.; Hashizume K., 2002: *The dynamic expression of extracellular matrix in the bovine endometrium at implantation*. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64 207-214.
- Yamaguchi R.; Muro Y.; Isotani A.; Tokuhiko K.; Takumi K.; Adham I.; Ikawa M.; Okabe M., 2009: *Disruption of ADAM3 Impairs the Migration of Sperm into Oviduct in Mouse*. *Biology of Reproduction*, 81 142-146.
- Yanagimachi R., 1970: *The movement of golden hamster spermatozoa before and after capacitation*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 23 193-196.
- Yanagimachi R., 1994a: *Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity*. *Zygote (Cambridge, England)*, 2 371-372.
- Yanagimachi R., 1994b: Chapter -2 Mammalian fertilization. Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction (Second Edition)*. New York, pp. 189-317.
- Yanagimachi R.; Chang M. C., 1963: *Sperm ascent through oviduct of hamster and rabbit in relation to time of ovulation*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 6 413.
- Yang C. H.; Srivastava P. N., 1975: *Purification and properties of hyaluronidase from bull sperm*. *Journal of Biological Chemistry*, 250 79-83.
- Yaniz J. L.; Lopez-Gatius F.; Hunter R. H. F., 2006: *Scanning electron microscopic study of the functional anatomy of the porcine oviductal mucosa*. *Anatomia Histologia Embryologia-Journal of Veterinary Medicine Series C*, 35 28-34.
- Yaniz J. L.; Lopez-Gatius F.; Santolaria P.; Mullins K. J., 2000: *Study of the functional anatomy of bovine oviductal mucosa*. *Anatomical Record*, 260 268-278.
- Yeste M.; Holt W. V.; Bonet S.; Rodriguez-Gil J. E.; Lloyd R. E., 2014: *Viable and morphologically normal boar spermatozoa alter the expression of heat-shock protein genes in oviductal epithelial cells during co-culture in vitro*. *Molecular Reproduction and Development*, 81 805-819.
- Yeung W. S. B.; Lee K. F.; Koistinen R.; Koistinen H.; Seppala M.; Chiu P. C. N., 2009: *Effects of glycodepins on functional competence of spermatozoa*. *Journal of Reproductive Immunology*, 83 26-30.
- Yoon S.; Chang K.-T.; Cho H.; Moon J.; Kim J.-S.; Min S.-H.; Koo D.-B.; Lee S.-R.; Kim S.-H.; Park K.-E.; Park Y. I.; Kim E., 2014: *Characterization of pig sperm hyaluronidase and improvement of the digestibility of cumulus cell mass by recombinant pSPAM1 hyaluronidase in an in vitro fertilization assay*. *Animal Reproduction Science*, 150 107-114

- Yuan H. X.; Zhang L.; Liu A. H.; Zhou H.; Wang Y. G.; Zhang H.; Wang G. Q.; Zeng R.; Zhang Y. L.; Chen Z. J., 2006: *Proteomic profiling of regionalized proteins in rat epididymis indicates consistency between specialized distribution and protein functions*. Journal of Proteome Research, 5 299-307.
- Yudin A.; Li M.; Robertson K.; Cherr G.; Overstreet J., 2001: *Characterization of the active site of monkey sperm hyaluronidase*. Reproduction, 121 735-743.
- Zaneveld L. J.; Polakoski K.; Schumacher G., 1973: *Properties of acrosomal hyaluronidase from bull spermatozoa - evidence for its similarity to testicular hyaluronidase*. Journal of Biological Chemistry, 248 564-570.
- Zhang H.; Martin-DeLeon P. A., 2003a: *Mouse epididymal Spam1 (PH-20) is released in the luminal fluid with its lipid anchor*. Journal of Andrology, 24 51-58.
- Zhang H.; Martin-DeLeon P. A., 2003b: *Mouse Spam1 (PH-20) is a multifunctional protein: Evidence for its expression in the female reproductive tract*. Biology of Reproduction, 69 446-454.
- Zhang H.; Martin-DeLeon P., 2001: *Mouse epididymal Spam1 (PH-20) is released in vivo and in vitro, and Spam1 is differentially regulated in testis and epididymis*. Biology of Reproduction, 65 1586-1593.
- Zhang H.; Morales C. R.; Badran H.; El-Alfy M.; Martin-DeLeon P. A., 2004: *Spam1 (PH-20) expression in the extratesticular duct and accessory organs of the mouse: A possible role in sperm fluid reabsorption*. Biology of Reproduction, 71 1101-1107.
- Zhang J. J.; Wu J. D.; Huo R.; Mao Y. Z.; Lu Y.; Guo X. J.; Liu J. Y.; Zhou Z. M.; Huang X. Y.; Sha J. H., 2007: *ERp57 is a potential biomarker for human fertilization capability*. Molecular Human Reproduction, 13 633-639.
- Zhao X. J.; Tang R. Z.; Wang M. L.; Guo W. L.; Liu J.; Li L.; Xing W. J., 2013: *Distribution of PDIA3 transcript and protein in rat testis and sperm cells*. Reproduction in Domestic Animals, 48 59-63.
- Zheng X. L.; Geiger M.; Ecke S.; Bielek E.; Donner P.; Eberspacher U.; Schleuning W. D.; Binder B. R., 1994: *Inhibition of acrosin by protein-c inhibitor and localization of protein-c inhibitor to spermatozoa*. American Journal of Physiology, 267 C466-C472.
- Zheng Y.; Martin-DeLeon P. A., 1999: *Characterization of the genomic structure of the murine Spam1 gene and its promoter: Evidence for transcriptional regulation by a cAMP-responsive element*. Molecular Reproduction and Development, 54 8-16.
- Zhou W. B.; Wang X. C.; Li L. X.; Feng X. C.; Yang Z. H.; Zhang W. W.; Hu R. M., 2010: *Depletion of tubulin polymerization promoting protein family member 3*

suppresses HeLa cell proliferation. Molecular and Cellular Biochemistry, 333 91-98.

Zitta K.; Wertheimer E. V.; Miranda P. V., 2006: *Sperm N-acetylglucosaminidase is involved in primary binding to the zona pellucida. Molecular Human Reproduction, 12* 557-563.