

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**ASSINATURAS PROTEICAS DAS GLÂNDULAS ANEXAS E
TESTÍCULOS DE RATOS OBESOS E DIABÉTICOS**

MARCOS GOMIDES CARVALHO

BOTUCATU, SÃO PAULO
MARÇO – 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**ASSINATURAS PROTEICAS DAS GLÂNDULAS ANEXAS E
TESTÍCULOS DE RATOS OBESOS E DIABÉTICOS**

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-
graduação em Biotecnologia Animal para
obtenção do título de DOUTOR.
Marcos Gomides Carvalho

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Ferreira de
Souza
Coorientador: Prof. Dr. João Luiz Amaro

BOTUCATU, SÃO PAULO
MARÇO – 2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Carvalho, Marcos Gomides.

Assinaturas proteicas das glândulas anexas e testículos
de ratos obesos e diabéticos / Marcos Gomides Carvalho. -
Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia

Orientador: Fabiana Ferreira de Sousa

Coorientador: João Luis Amaro

Capes: 50504002

1. Pesquisa médica translacional - Medicina veterinária.
2. Fertilidade. 3. Próstata. 4. Síndrome metabólica.
5. Vesícula seminal.

Palavras-chave: Estudo translacional; Fertilidade;
Próstata; Síndrome metabólica; Vesícula seminal.

Nome do autor: Marcos Gomides Carvalho

Título: ASSINATURAS PROTEICAS DAS GLÂNDULAS ANEXAS E TESTÍCULOS
DE RATOS OBESOS E DIABÉTICOS

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

Presidente e Orientadora

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, FMVZ - UNESP -
Botucatu/SP

Profa. Dra. Camila Renata Correa Camacho

Membro

Departamento de Clínica Médica, FMB - UNESP - Botucatu/SP

Profa. Dra. Kelry Mayara Da Silva

Membro

UNIFATECIE, Paranavaí/PR

Profa. Dra. Thaís Regiani Cataldi

Membro

Departamento de Genética, ESALQ - USP - Piracicaba/SP

Profa. Dra Jaqueline Candido de Carvalho

Membro

UNISA, São Paulo/SP

Data da defesa: 28 de março 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a minha Família, em especial os meus pais Ginaldo e Maria Terezinha, e os meus irmãos Ricardina, Mariana e Ginaldo Júnior e meus sobrinhos, João Paulo e Pedro Lucas, pelo amor e apoio incondicional durante todos esses anos de jornada acadêmica. Pela compreensão e apoio durante tanta ausência. São minhas inspirações e de onde sempre obtenho forças para seguir. E a Deus e Nossa Senhora por toda a proteção e interseção.

A todos os meus amigos de Goiandira, Uberaba, Botucatu e Colômbia, por compartilharmos momentos, por serem minha rede de apoio e a família que escolhi. Sem vocês definitivamente, eu não seria tão feliz e realizado.

A minha orientadora Fabiana Ferreira de Souza, por todo esse tempo de parceria, pela forma que conduziu meus ensinamentos e aprendizado, e pela amizade e admiração construídas. Estendo a todos os professores que passaram pelo meu caminho durante toda a minha formação, aos quais eu tenho total admiração e respeito.

A CAPES e ao CNPq pela concessão de bolsas no Brasil e no Canadá.

RESUMO

CARVALHO, M.G. ASSINATURAS PROTEICAS DAS GLÂNDULAS ANEXAS E TESTÍCULOS DE RATOS OBESOS E DIABÉTICOS. Botucatu – SP 2024. 424p. Defesa (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

A incidência crescente da obesidade e do diabetes representa um desafio significativo para a saúde pública mundial. Na faixa etária dos jovens em idade reprodutiva, a prevalência dessas condições é alarmante, atingindo 19,8% para a obesidade e 8,5% para o diabetes. Além disso, essas doenças estão ligadas à disfunção hormonal e erétil, comprometendo a morfologia e a qualidade dos espermatozoides. Os processos inflamatórios e o estresse oxidativo resultantes de irregularidades na sinalização da glicose e insulina são fatores determinantes para a atrofia e deterioração funcional dos testículos e glândulas associadas, contribuindo significativamente para a infertilidade masculina. Nesse sentido, pretende-se compreender os efeitos da síndrome metabólica na função testicular, próstata e vesícula seminal, utilizando a proteômica para identificar biomarcadores para diagnóstico ou prognóstico da infertilidade masculina. Foram utilizados 30 ratos Wistar com aproximadamente 50 dias de idade, separados em 3 grupos: controle (n = 10), diabéticos (n = 10) e obesos (n = 10). O grupo obeso recebeu dieta de cafeteria e água *ad libitum* com 5% de sacarose, por 38 semanas, simultaneamente os grupos controle e diabéticos receberam ração comercial balanceada e água *ad libitum*. Os animais foram pesados uma vez por semana, para avaliação da evolução do peso para cálculo do índice de *Lee*. O diabetes foi induzido com aplicação de 35 mg/kg de estreptozotocina, dose única, e foram considerados diabéticos animais com perda de peso corporal e níveis de glicemia maiores ou iguais a 200 mg/dL. Os testículos, próstata e vesícula seminal, foram dissecados e preparados para proteômica a qual utilizou a abordagem *shotgun* (CEUA, n 0212/2022). Os dados foram submetidos a análise multivariada (*principal component analysis*) e a univariada (ANOVA e teste de Fisher LSD). Curvas ROC foram construídas para grupos tratados (diabéticos ou obesos) *versus* controle, considerando AUC > 0,80 e P < 0,05. Na análise de componentes principais (PCA) realizada na próstata e no fluido da vesícula seminal, observou-se uma clara separação apenas no grupo de diabéticos, destacando a identificação de 23 e 8 proteínas, respectivamente, com abundância diferencial. Já no testículo, a PCA revelou uma distinção entre os grupos controle, diabético e obeso, conforme evidenciado pelo *heatmap*. Nesse contexto, foram identificadas 80 proteínas com abundância diferencial, distribuídas em diferentes localizações celulares, como citoplasma, acrossomo da célula espermática, mitocôndria e núcleo. A maioria dessas proteínas são produzidas nos testículos humanos. Além disso, na análise das interações proteína-proteína, foram identificadas vias relevantes, como Wnt e spliceossomo, juntamente com alterações nas atividades enzimáticas das vias de glicólise/gliconeogênese. Este estudo revela que as proteínas identificadas estão intimamente ligadas à atividade androgênica, motilidade espermática, integridade celular, proteção contra estresse oxidativo e fertilização. Essas descobertas oferecem *insights* valiosos sobre possíveis biomarcadores associados às glândulas sexuais acessórias e células testiculares em contextos de diabetes e obesidade. Notavelmente, os efeitos foram mais pronunciados entre os indivíduos diabéticos, enquanto nos obesos foram observados mecanismos compensatórios. Essas conclusões destacam a importância crítica de entender as complexas interações entre condições metabólicas e saúde reprodutiva masculina.

Palavras chaves: síndrome metabólica; próstata; vesícula seminal, fertilidade, estudo translacional

ABSTRACT

CARVALHO, M.G. PROTEIN SIGNATURES OF THE ANNEX GLANDS AND TESTICLES OF OBESE AND DIABETIC RATS. Botucatu – SP 2024. 424p. Defesa (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

The increasing incidence of obesity and diabetes represents a significant challenge for global public health. In the age group of young individuals in reproductive age, the prevalence of these conditions is alarming, reaching 19.8% for obesity and 8.5% for diabetes. Furthermore, these diseases are linked to hormonal and erectile dysfunction, compromising the morphology and quality of spermatozoa. The inflammatory processes and oxidative stress resulting from irregularities in glucose and insulin signaling are determining factors for the atrophy and functional deterioration of testicles and associated glands, significantly contributing to male infertility. In this regard, there is an intention to understand the effects of metabolic syndrome on testicular, prostatic, and seminal vesicle function, using proteomics to identify biomarkers for the diagnosis or prognosis of male infertility. Thirty Wistar rats approximately 50 days old were used, divided into 3 groups: control (n = 10), diabetic (n = 10), and obese (n = 10). The obese group received a cafeteria diet and ad libitum water with 5% sucrose for 38 weeks, while the control and diabetic groups received balanced commercial feed and ad libitum water simultaneously. The animals were weighed once a week to evaluate weight evolution for Lee index calculation. Diabetes was induced by administering a single dose of 35 mg/kg streptozotocin, and animals with body weight loss and blood glucose levels equal to or greater than 200 mg/dL were considered diabetic. The testicles, prostate, and seminal vesicle were dissected and prepared for proteomics using shotgun approach (CEUA, n 0212/2022). The data underwent multivariate analysis (principal component analysis) and univariate analysis (ANOVA and Fisher LSD test). ROC curves were constructed for treated groups (diabetic or obese) versus control, considering AUC > 0.80 and P < 0.05. In the principal component analysis (PCA) performed on the prostate and seminal vesicle fluid, a clear separation was observed only in the diabetic group, highlighting the identification of 23 and 8 proteins, respectively, with differential abundance. In the testicle, PCA revealed a distinction between control, diabetic, and obese groups, as evidenced by the heatmap. In this context, 80 proteins with differential abundance were identified, distributed in different cellular locations such as cytoplasm, sperm cell acrosome, mitochondria, and nucleus. Most of these proteins are produced in human testicles. Additionally, in the analysis of protein-protein interactions, relevant pathways were identified, such as Wnt and spliceosome, along with alterations in enzymatic activities of glycolysis/gluconeogenesis pathways. This study reveals that the identified proteins are closely linked to androgenic activity, sperm motility, cellular integrity, protection against oxidative stress, and fertilization. These findings offer valuable insights into potential biomarkers associated with accessory glands and testicular cells in the context of diabetes and obesity. Notably, the effects were more pronounced among diabetic individuals, while compensatory mechanisms were observed in obese individuals. These conclusions highlight the critical importance of understanding the complex interactions between metabolic conditions and male reproductive health.

Keywords: metabolic syndrome; prostate; seminal vesicle, fertility, translational study

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	2
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	2
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A relação da obesidade, diabetes e síndrome metabólica com a fertilidade masculina.....	3
2.2 Proteômica	8
2.2.1 Testículo	9
2.2.2 Vesícula seminal e Próstata	13
3 HIPÓTESE	18
4 OBJETIVO GERAL.....	18
5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
6 REFERÊNCIAS.....	19
CAPÍTULO 2.....	39
ARTIGO CIENTÍFICO	40
INTRODUÇÃO.....	42
SEÇÃO EXPERIMENTAL	43
Preceitos éticos	43
Design experimental.....	43
Proteômica	43
Análise estatística	45
RESULTADOS	47
Análise comparativa dos 3 grupos	47
DISCUSSÃO.....	54
Tecido prostático.....	54
Fluido da vesícula seminal	59
CONCLUSÃO	62

REFERÊNCIAS	63
CAPÍTULO 3	359
ARTIGO CIENTÍFICO	360
INTRODUÇÃO	363
SEÇÃO EXPERIMENTAL	364
Reagentes.....	364
Design experimental.....	364
Proteômica	364
Digestão triptica.....	365
LC–MS/MS Análise.....	365
Análise estatística	367
RESULTADOS	367
Proteômica	367
DISCUSSÃO	375
Citoplasma	375
Célula espermática	379
Mitocôndria.....	381
Núcleo	383
Via glicólise/gliconeogênese	388
CONCLUSÃO	388
REFERÊNCIA	389

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O peso médio da população tem se modificado rapidamente ao longo dos anos e, durante gerações, a curva de distribuição tem crescido de forma exponencial, e o peso humano continua se elevando, afetando homens, muitas vezes jovens e na fase reprodutiva. Em 2019, a obesidade já ocupava o 5º lugar no ranking mundial de doenças que levam ao óbito (Ritchie and Roser, 2020). A evolução global (%), em relação ao aumento da prevalência da obesidade em adultos (> 18 anos), com excesso de peso (IMC > 30), é de 19,8% sendo 16,2% em homens. No Brasil a prevalência é de 22,1% na população e 18,5% em homens. A estimativa é, que até 2035, a prevalência no Brasil seja 41% na população adulta (Lobstein et al., 2023; Wisevoter, 2023a).

Segundo a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) (Tschiedel, 2014), a obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal no indivíduo, causada pela predisposição genética, maus hábitos alimentares ou disfunção endócrina. Em homens, o ideal é que o tecido adiposo corresponda a 20% do peso corporal (Marques and Langouche, 2013). O diagnóstico da obesidade é realizado pelo índice de massa corporal (IMC), parâmetro utilizado pela OMS (WHO, 2018). A obesidade tem etiologia complexa e é associada a diversas comorbidades, elevando o risco de doenças crônicas cardíacas, derrame e diabetes *mellitus* (Pedersen, 2013; Wisevoter, 2023a).

O termo diabetes *mellitus* descreve o distúrbio metabólico com diversas etiologias, alterando o metabolismo de proteínas, gorduras, carboidratos, devido a danos na ação e/ou secreção da insulina (Alberti and Zimmet, 1999; Roglic et al., 2005). Assim como a obesidade, a doença apresenta elevada incidência e abrangência mundial, acometendo também jovens na fase reprodutiva, cuja prevalência é de 9,3% em pessoas com idades acima de 18 anos, de 2000 a 2019 a taxa de mortalidade aumentou 3%, sendo a causa direta de 1,5 milhões de mortes ao ano (WHO, 2023a). No Brasil a prevalência é de 8,8% (Wisevoter, 2023b). Portanto, considerando que essas comorbidades sistêmicas possam coexistir, a avaliação, compreensão e o tratamento voltado para reprodução, de ambas as doenças, assumem uma importância crucial.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2023b) estima-se que 17,5% (1 a cada 6 indivíduos) das pessoas adultas ao redor do mundo apresentam infertilidade, sendo a síndrome metabólica, um dos fatores masculinos (Heryanto et al., 2022; Y. Zhang et al., 2023). A fertilidade é definida como a capacidade de gerar descendentes normais, condição essencial para o progresso genético, podendo ser alterada por condições que

afetam a capacidade de cópula e/ou habilidade dos espermatozoides fecundarem o oócito (Bicudo et al., 2007). Em humanos, atualmente estima-se que a infertilidade atinja 8% a 15% dos casais em idade reprodutiva (Cui, 2010). São considerados inférteis casais que não usam métodos contraceptivos durante 12 meses, e não conseguem engravidar, (WHO, 2023b) aproximadamente 35% dos casos, a infertilidade é causada por fatores masculinos ou femininos, 20% fatores masculinos e 10% fatores desconhecidos (Matos, 2019). Assim poderíamos dizer, que 55% são fatores masculinos.

As implicações genéticas na ocorrência de obesidade são raras, sendo originada por diversos fatores, como alterações ambientais e comportamentais (Malik, Hu, 2012; Nascimento et al., 2008). Por esse motivo modelos experimentais poligênicos de obesidade induzida por dietas, são preferencialmente utilizados, mimetizando a fisiopatologia da doença, levando a melhor compreensão da síndrome metabólica, e consequente diabetes (Brown, Panchal, 2011; Nilsson et al., 2012).

Em vista da prevalência da obesidade e das comorbidades associadas, como o diabetes, ambas atuando na síndrome metabólica e consequentemente sobre a fertilidade masculina, este estudo teve como objetivo identificar os efeitos da doença sobre a capacidade reprodutiva de ratos obesos e diabéticos. Embora sejam de abrangência mundial ainda permanece inconclusivo, a influência dessas doenças e suas associações no sistema reprodutivo. Desta forma, este estudo visa identificar suas consequências no eixo reprodutivo, utilizando a abordagem proteômica do testículo, próstata e vesícula seminal, em busca de possíveis biomarcadores da infertilidade masculina.

A associação entre as comorbidades e as ações deletérias na função reprodutiva masculina é multifatorial, isso dificulta o entendimento das vias pelas quais ocorrem as principais alterações moleculares, levando a uma diversificada tradução de proteínas no tecido alvo. Ademais, os estudos translacionais utilizam diferentes metodologias e modelos experimentais, para indução da obesidade e diabetes, somado a isso, existem poucos estudos que avaliam ambas as doenças no mesmo delineamento experimental e que usam proteômica do sistema reprodutivo de obesos e diabético.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A relação da obesidade, diabetes e síndrome metabólica com a fertilidade masculina

O tecido adiposo é um tecido conjuntivo frouxo específico, no qual há o predomínio de células arredondadas denominadas adipócitos, que acumulam no

citoplasma gotículas de lipídios, os triglicerídeos, os quais são fonte de energia. As células são margeadas por uma rede de capilares e nervos, atuando no sistema endócrino e possuem papel metabólico importante, responsável pela secreção de diversas proteínas. Localizado abaixo da derme, auxiliando na manutenção da temperatura corporal e contra choques mecânicos (Figura 1). Em homens, o ideal é que este tecido corresponda a 20% do peso corporal (Marques, Langouche, 2013).

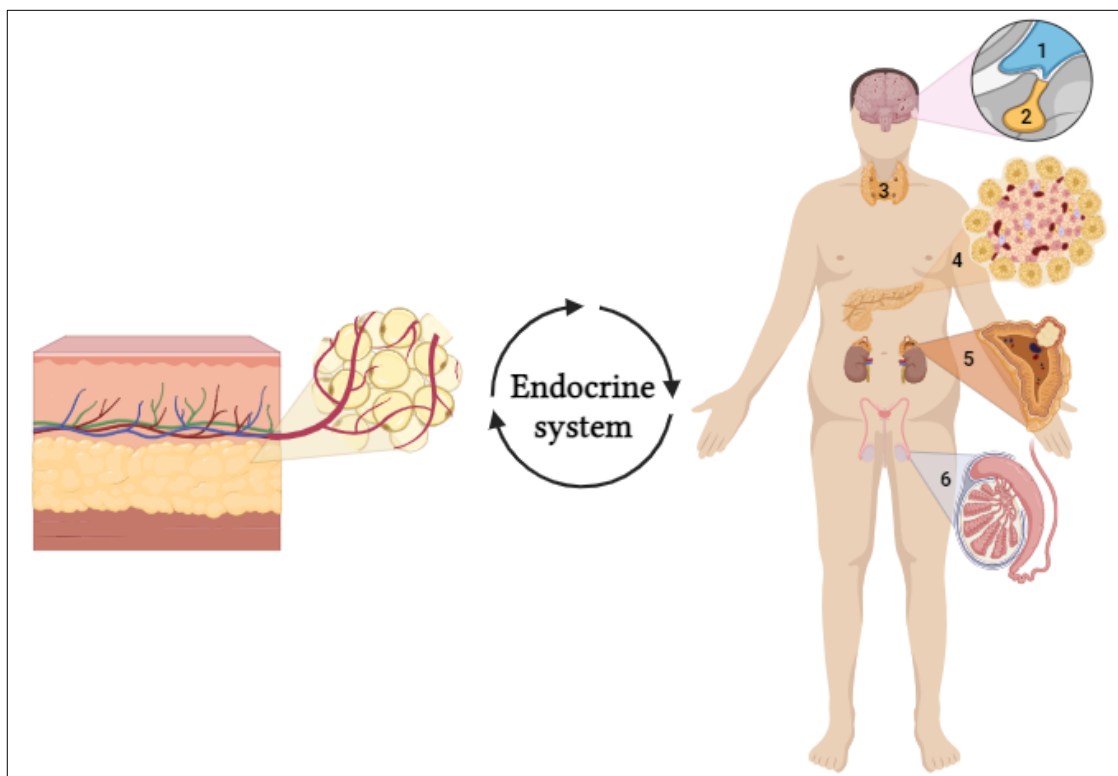


Figura 1. Principais órgãos do sistema endócrino masculino (Hiller-Sturmhöfel and Bartke, 1998), que trabalham em conjunto para homeostase hormonal, regulando várias funções do corpo. (1) Hipotálamo; (2) Hipófise; (3) Tireoide (paratireoide); (4) Pâncreas (ilhas de Langerhans); (5) Glândulas adrenais e (6) Testículos, (created with BioRender.com).

O tecido adiposo é considerado o maior órgão endócrino do organismo. (Holland et al., 2007), produz adipocinas, a leptina e adiponectina, cujo excesso está relacionado com a obesidade e resistência à insulina, uma das causas do diabetes.

O aumento da adiposidade antagoniza a função da insulina e assim a absorção e o armazenamento de nutrientes, já que a glicose circulante não fica disponível para células (Holland et al., 2007), caracterizando o diabetes *mellitus*, cujo termo descreve o distúrbio metabólico com diversas etiologias, alterando o metabolismo de proteínas, gorduras,

carboidratos, devido a danos na ação e/ou secreção da insulina (Alberti, Zimmet, 1999; Roglic et al., 2005). Existem dois tipos principais do diabetes *mellitus*, o tipo 1 (autoimune) e 2 (metabólica), ambas apresentam alto índice de glicose no sangue devido a deficiência na produção ou ação da insulina, respectivamente, (Figura 2), (Tschiedel, 2014).

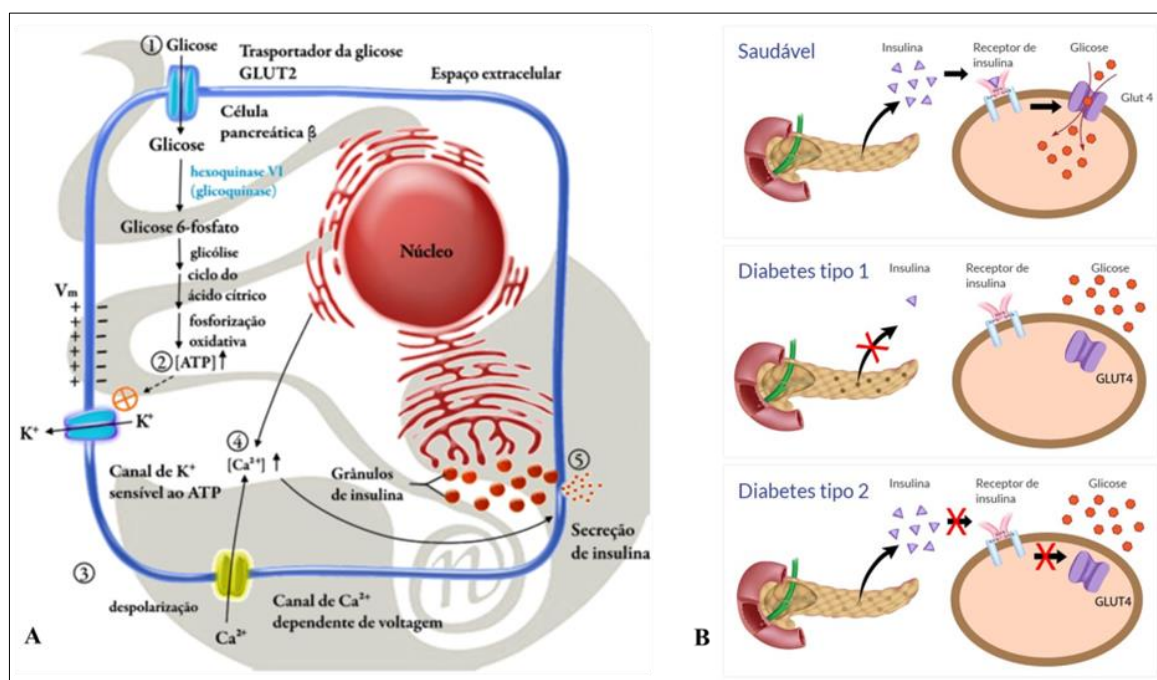


Figure 2. (A) mecanismo de liberação da insulina. (B) mecanismos que caracterizam os tipos do diabetes. (Fontana, 2023; NUMEB, 2023).

A leptina é produzida pelos adipócitos e foi a primeira adipocina identificada e em pessoas obesas e está relacionada com o aumento da adiposidade, atuando diretamente no metabolismo da glicose (Ouchi et al., 2011; Singla; Bardoloi; Parkash, 2010; Zhang et al., 1994). Essa adipocina possui receptores localizados em regiões do cérebro, no tecido adiposo e gônadas. Mutações na leptina ou seus genes receptores podem causar obesidade mórbida, infertilidade e resistência à insulina (Ehrhardt et al., 2001; Houseknecht; Portocarrero, 1998).

A leptina atua no eixo reprodutivo, por causar um bloqueio na saciedade, fazendo a conexão entre a condição nutricional e a reprodução. Está presente nos testículos, atuando como sinalizadora do metabolismo, indicando que há reservas energéticas (Dudas; Merchenthaler, 2006; Fernandez et al., 2011; Kraemer et al., 2001; Smith et al., 2005a). Alterações em seus níveis podem inibir a secreção esteroidal, prejudicando a

função das células de Leydig e a secreção hormonal, comprometendo o desenvolvimento da função sexual em humanos, culminando no hipogonadismo e no diabetes tipo 2 (Isidori et al., 1999; Michalakis et al., 2012; Spicer, 2001). Quanto maior o grau de obesidade, maior a inibição testicular, menor os valores de testosterona total e produção de espermatozoides (Dudas; Merchenthaler, 2006; Fernandez et al., 2011; Kraemer et al., 2001; Smith et al., 2005b).

A adiponectina outra adipocina, também desempenha um papel importante na homeostase energética (Lindsay et al., 2002). Possui receptores localizados nas células endoteliais do cérebro e no hipotálamo (Chung et al., 2014; Kim et al., 2007; Yamauchi et al., 2003), cuja função é diminuir o gasto energético atuando nos níveis de glicose e insulina (Scherer, 2006). Na obesidade há uma diminuição da adiponectina que compromete sua ação moduladora na regulação do eixo reprodutivo, podendo resultar na diminuição do LH e redução de GnRH (Lu et al., 2008). Acredita-se que a adiponectina tenha relação com a redução do potencial reprodutivo (KASHOU; Du Plessis; Agarwal, 2012), já que a homeostase energética é importante para a espermatogênese (Rato et al., 2012). Este mecanismo de equilíbrio energético mantém a proliferação e sobrevivência celular, diminuindo a apoptose e estresse oxidativo, aumentando a concentração espermática (Kasimanickam et al., 2013). Ademais, a ação anti-inflamatória da adiponectina pode prevenir a disfunção testicular (Wu et al., 2013).

Outro hormônio que sofre alteração frente a síndrome metabólica é a grelina. Predominantemente produzida nas glândulas gástricas (Colldén; Tschöp; Müller, 2017), está presente na circulação sanguínea na forma inativa e ativa, embora a primeira corresponda a 80-90% dos níveis circulantes, e a segunda é a responsável pela atividade endócrina (Delporte, 2011). Atua controlando a homeostase energética (Colldén; Tschöp; Müller, 2017; Howard et al., 1996) e, dentre seus efeitos mais predominantes, está o estímulo a ingestão alimentar e diminuição dos gastos energéticos (Rudenko et al., 2019). Na obesidade (Tschöp et al., 2001) e no diabetes tipo 2 (Lindqvist et al., 2020) os níveis reduzidos de grelina inibem a secreção de insulina, o que pode levar ao aumento da glicose no sangue (Broglia et al., 2004; Granata et al., 2010), isso resulta em uma menor disponibilidade de glicose para os tecidos, uma vez que a insulina é responsável pelo transporte de glicose para as células (Perales; Sener; Malaisse, 1988).

A hipófise, ilhotas pancreáticas e o núcleo arqueado hipotalâmico possuem receptores para grelina (Gnanapavan et al., 2002; Guan et al., 1997). Sua expressão também é evidente nos tecidos reprodutivos, atuando como fator endócrino e parácrino

(Barreiro; Tena-Sempere, 2004; Gualillo et al., 2003). Em vista da sua importância nas funções biológicas reprodutivas masculinas (Dupont et al., 2010), este hormônio está sendo considerado um modulador, da via gonadotrófica (Dallak, 2018). A grelina, assim como a leptina estimulam o início da puberdade em humanos (Whatmore et al., 2003) e em ratos machos (Müller et al., 2015). A grelina atua em conjunto com o FSH regulando a expressão do gene GHS-R testicular (Gaytan et al., 2004), seu declínio pode causar disfunção, levando a inibição da secreção de LH na hipófise anterior (Furuta; Funabashi; Kimura, 2001), podendo afetar os níveis de testosterona (Hamed; Naji; Jasim, 2016), que são associados ao hipogonadismo (Zhang et al., 2018).

Transcritos da grelina foram identificados no testículo de homens e ratos (Gnanapavan et al., 2002; Tena-Sempere, 2002). Sua ação também foi identificada nos túbulos seminíferos inibindo as funções das células de Sertoli, afetando o desenvolvimento das células germinativas e sua sobrevivência (Repaci et al., 2011). Ademais, a grelina possui ação antioxidante no epidídimo (Kheradmand; Taati; Babaei, 2009) aumentando a integridade da membrana e a motilidade espermática (Lukaszyk et al., 2012).

Outro hormônio envolvido na síndrome metabólica, é a insulina, produzida no pâncreas pelas células beta-pancreáticas, e modulada pelos níveis de glicose sérica, que estimulam sua liberação e síntese (Matschinsky, 1996; Perales; Sener; Malaisse, 1988; Prentki; Corkey, 1996). A glicose não ultrapassa diretamente a membrana celular, sendo dependente do estímulo adequado da insulina (Figura 2) (BELL et al., 1990). Quando esse mecanismo (entrada da glicose na célula) é afetado pela ausência ou alteração no mecanismo de ação da insulina, compromete a respiração celular e a produção de ATPs, o que são fatores de risco para diversas doenças, entre estas a diabetes *mellitus* e a infertilidade (Holland et al., 2007).

A relação da insulina com a infertilidade é baseada na demanda energética das células do sistema reprodutor para manutenção de suas funções, como as células germinativas (espermatogênese) (Jutte et al., 1981; Riera et al., 2002) e dos espermatozoides (motilidade, capacitação e reação do acrossomo) (Van Tilburg et al., 2008) o que garantem a fertilização (Andò; Aquila, 2006).

A insulina desempenha um papel crucial no trato reprodutor, influenciando os níveis de FSH e LH no sangue. A regulação desses hormônios afeta diretamente a produção de testosterona pelas células de Leydig, o que, por sua vez, impacta a espermatogênese (Corona et al., 2011; Rato et al., 2015). Além disso, a elevação do índice

glicêmico está associada ao aumento do estresse oxidativo, caracterizado pelo desequilíbrio entre a geração de radicais livres com capacidade oxidante e antioxidante. Esse processo pode resultar em peroxidação lipídica, fragmentação do DNA nuclear e mitocondrial dos espermatozoides, bem como oxidação de várias moléculas, causando danos à membrana plasmática (Barbosa et al., 2010). Essas alterações contribuem para danos no DNA, levando à infertilidade (Barbosa et al., 2010; Lima; Abdalla, 2001). Em conjunto, esses fatores hormonais e de estresse oxidativo exercem um impacto significativo na saúde reprodutiva masculina.

A leptina, adiponectina, insulina e grelina possuem receptores que interagem com a sinalização do GnRH (Navratil et al., 2009; Qiu et al., 2018; Schwartz, 2001). Essa rede neuronal que comunica o estado nutricional e reprodutivo, pode trazer explicações das afecções frente a síndrome metabólica. O hipotálamo é essencial para a homeostase da ingestão alimentar e das funções reprodutivas (Guzmán et al., 2018). Os extremos do peso corporal causados pela obesidade, associada ou não a diabetes (Pasquali; Patton; Gambineri, 2007; Wahab; Shahab; Behr, 2015), podem levar a uma alteração do funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal levando a danos na fertilidade.

2.2 Proteômica

A análise das proteínas dos tecidos, células e secreções do trato reprodutor é o foco de muitos estudos, a qual pode permitir a identificação de biomarcadores de fertilidade e a avaliação dos efeitos das injúrias sofridas pelos tecidos ou células em indivíduos obesos e/ou diabéticos (Barros et al., 2013; Boerke; Dieleman; Gadella, 2007; Cox; Mann, 2007). Nosso estudo anterior demonstrou alterações na proteômica espermática em ratos Wistar diabéticos e obesos. Foram identificadas 15 proteínas, diferencialmente abundante entre os grupos, das quais 12 e 7 foram menos abundantes nos diabéticos e obesos, respectivamente, assim como 3 e 8 foram mais abundantes nos diabéticos e obesos, quando comparados ao controle (Carvalho et al., 2021).

A proteômica demonstra um distúrbio na produção de energia e alterações estruturais espermáticas, as quais são responsáveis pela motilidade espermática e, consequentemente, a fertilidade. As alterações foram mais significativas no grupo diabético. Já nos obesos, vários resultados indicaram mecanismos compensatórios, os quais não foram observados nos diabéticos (Carvalho et al., 2021). A análise dos testículos e glândulas anexas (próstata e vesícula seminal) (Figura 3), podem elucidar as alterações ocorridas em todo o sistema reprodutor.



Figura 3. Sistema reprodutor do Rato Wistar. Vesícula seminal (1); Próstata (2); Testículo (3); Epidídimo – Cabeça (4); Cauda (5); Canal deferente (6); Bexiga (7); Glândula Bulbouretral (8); Pênis (9), (Arquivo pessoal).

2.2.1 Testículo

Poucos estudos proteômico utilizando a espectrometria de massas, são encontrados em testículos de machos obesos e nenhum em diabéticos (Tabela 1), abaixo foram explorados os principais resultados encontrados na literatura.

A avaliação dos testículos de Camundongos (C57BL/6) com obesidade induzida utilizando dieta rica em gordura (45%) durante 21 semanas, apresentou como alterações, histológicas, estreitamento dos túbulos seminíferos com redução das células de Sertoli, índice meiótico e espermátides arredondadas. Na proteômica foram encontradas 4960 proteínas no total, das quais 102 proteínas foram diferentemente expressas estatisticamente, nos testículos de camundongos obesos, das quais 82% estavam diminuídas e 18% aumentadas (Jarvis et al., 2020).

Houve uma correlação positiva entre os resultados da histologia e proteômica, demonstrados na ontologia gênica, cujas funções foram relacionadas as divisões celulares (meiose e mitose), catabolismo, transporte de proteínas e biogênese celular. As principais vias de sinalização específicas dos testículos alteradas foram sinalização de células germinativas: junção de células e sinalização de Sertoli. Na análise do *western blotting*, foram escolhidas 5 proteínas que tivessem relevância biológica para a fertilidade, dessas a: *sterol regulatory element-binding protein 2* (SREBP2); *apolipoprotein A1* (APOA1);

filamin A (FLNA); *paraspeckle component 1* (PSPC-1), estavam diminuídas e foram relacionadas a deleção dos receptores de andrógeno, e consequente diminuição de testosterona. *A spermatogenesis associated 20* (SPATA-20), estava aumentada e foi relacionada ao estresse oxidativo testicular (Jarvis et al., 2020).

Na imunolocalização testicular, foram utilizadas as proteínas FLNA (foi altamente expressa no citoplasma de células mioides peritubulares e espermátides alongadas); PSPC1 (expresso apenas em células germinativas, espermátócitos e núcleos de espermátides redondas); SREBP2 (expresso nos núcleos das células de Sertoli, Leydig, citoplasma dos espermátócitos, espermátides redondas e alongadas). Em geral o testículo de camundongos obesos apresentaram menor intensidade de coloração para FLNA em células germinativas, assim como menos células germinativas coradas positivas para PSPC-1, com intensidade menor dentro dos núcleos, quando comparados ao controle. A FLNA é descrita como regulador crítico encontrado nas células-tronco espermatogoniais em humanos (Welter et al., 2020), enquanto a PSPC-1 foi associada ao desenvolvimento testicular e espermatogênese (Jarvis et al., 2020).

Esse mesmo estudo utilizou biopsias testiculares de pacientes submetidos a microcirurgia para extração de espermatozoides (mTESE – técnica utilizada em homens azoospermicos não obstrutivos) (Bouker et al., 2019), para imunolocalização das proteínas alvo (FLNA, SREBP2, PSPC1), utilizando os mesmos anticorpos que reagem em ambas as espécies, e demonstrou mesmo padrão de coloração nos componentes testiculares, comparados aos camundongos obesos, sugerindo papéis conservados em as espécies (JARVIS et al., 2020).

Em ratos *Sprague-Dawley* com obesidade induzida com dieta rica em gordura (32,7%), durante 12 semanas, quando comparados ao controle, apresentaram alterações quanto à análise computadorizada de sêmen (CASA), houve diminuição na concentração e motilidade e na histologia testicular, os túbulos seminíferos estavam atroficos e distorcidos, com número de células no lúmen reduzido. Na proteômica foram identificadas 6765 proteínas, 107 foram diferencialmente expressas no tecido testicular entre os grupos controle e obesos, delas 67 estavam reguladas negativamente e 40 positivamente, dessas, 13 proteínas foram selecionadas quando fortemente relacionadas a reprodução e metabolismo. No *western blotting* foram validadas 4 proteínas diferencialmente expressas: *Mothers against decapentaplegic homolog 2* (Smad2), *Ephrin type-A receptor 5* (Epha5) e *Mitogen-activated protein kinase 1* (Mapk1), foram reguladas positivamente, enquanto a *Cysteine-rich secretory protein 1* (Crisp1),

importante para fertilização (Curci et al., 2020) foi regulada negativamente. Em geral a ontologia gênica mostrou a regulação negativa: dos processos reprodutivos quanto a atividade estrutural da molécula, estrutura da matriz extracelular, ligação ao fator de crescimento. As vias metabólicas alteradas foram: a remodelação do citoesqueleto, diferenciação de queratinócitos, resposta imune, ciclo celular, ativação plaquetária e metabolismo de beta-alanina, esses resultados foram relacionados ao declínio de fertilidade em obesos (Xiu-Yan et al., 2018).

Lv, Ling e Chen (2020), utilizaram camundongos (C57BL/6J), com obesidade induzida com dieta hiperlipídica (40,5%). Os resultados da histologia apresentaram alterações testiculares, desorganização nas células espermato gênicas e dos túbulos seminíferos em animais obesos. A análise de microscopia eletrônica demonstrou degeneração ultraestrutural do tecido testicular de camundongos obesos, quando comparados ao controle, evidenciando inchaço, membranas basais espessadas dos túbulos seminíferos, mitocôndrias vacuolares e retículo endoplasmático dilatado em células espermato gênicas, Sertoli e Leydig, a degradação do tecido testicular foi descrita também por Jarvis et al., 2020.

A proteômica identificou 7241 proteínas, 58 foram expressas diferencialmente entre o grupo obeso e controle, 39 diminuídas e 19 aumentadas. As proteínas importantes relacionadas a função dos espermatozoides, como *Cysteine-rich secretory protein 1* (Crisp1), *Seminal vesicle secretory protein* (Svs3a, Svs4, Svs5), *Prostate and testis expressed 4* (Pate4), *Serine protease inhibitor, Kazal type-like* (Spink1) e *Testis-specific serine kinase 3* (Tssk3), reguladas negativamente no obeso. A ontologia genica demonstrou que no processo biológico os termos significativamente enriquecidos foram: a capacitação espermática, motilidade espermática, remodelação de partículas de lipoproteínas, esterificação de colesterol e esterificação de esteroides. Na categoria de função molecular: atividade molecular estrutural, atividade transportadora de colesterol e atividade transportadora de esterol e para o componente celular: filamento intermediário, citoesqueleto, queratina, região extracelular e espaço extracelular. Na análise de vias, foram comprometidas a via de sinalização do estrogênio e o metabolismo do colesterol. Esses resultados foram associados ao declínio da testosterona sérica nos animais obesos (Lv et al., 2020).

Esse mesmo estudo utilizou resveratrol, medicamento indicado como promissor para redução dos efeitos metabólicos associado à obesidade (Springer and Moco, 2019), em ratos obesos e os parâmetros foram analisados comparando aos grupos obesos, obesos

+ resveratrol e controle. O resveratrol atenuou os efeitos negativos na histologia testicular supracitadas melhorando a qualidade do espermatozoide. Na proteômica, a CRISP1 encontrada diminuída no estudo realizado por Jarvis et al., 2020, foi regulada positivamente no testículo de animais obesos tratados com resveratrol. A *Testis-specific serine kinases* (Tssks), importante para funcionalidade espermática, com função estrutural, e a maioria delas são expressas apenas nos testículos (Wang et al., 2015), é indicada como potencial contraceptivo em macho, e seu nocaute pode interromper a espermiogênese (Zhang et al., 2023). Houve o aumento também da *Seminal vesicle secretory* (Svs), as proteínas dessa família são atuantes na regulação da capacitação espermática (Araki et al., 2016), e está envolvida na formação do tampão copulatório assegurando a fecundidade do macho (Noda et al., 2019).

Estes resultados proteômico apresentam novos insights sobre os mecanismos que levam à subfertilidade ou infertilidade masculina associada à obesidade e possíveis biomarcadores terapêuticos. Todos trazem em geral, como efeito deletério principal, a alteração dos níveis de testosterona e ou sua ação testicular e subsequente alterações nos parâmetros reprodutivos.

O *diabetes mellitus* tem sido associado a subfertilidade/infertilidade masculina nos estudos atuais, em busca de melhor compreender como ocorrem essas alterações utilizando modelos experimentais, como estudos translacionais. Long et al., 2018, indicaram que ocorre uma redução do fator de crescimento endotelial vascular, devido a hiperglicemia, comprometendo a microcirculação testicular que leva ao desarranjo morfológico tecidual e distúrbio funcional.

Aziz et al., 2018 encontram a diminuição dos níveis séricos de testosterona e FSH, aumento do malonaldeído (MDA) e diminuição da capacidade antioxidante (TCA), indicando estresse oxidativo significativo, aumento do TNF- α e NF- κ B p65, devido a inflamação, diminuição do marcador anti-apoptótico (Bcl-2). Assim como Elbanna et al., 2023, tiveram como resultados da análise de testículos de ratos diabéticos, tratados com estreptozotocina, fármaco utilizado para indução do diabetes, aumentos nas concentrações testiculares de TNF- α , IL-6, IL-1 β (inflamação) e MDA e diminuição nas concentrações testiculares dos antioxidantes: superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione (GSH) e catalase (CAT).

Os estudos trazem resultados importantíssimos, que se confrontados com a espectrometria de massas, enriqueceriam o entendimento dos padrões de alterações,

quanto as funções antioxidantes, estresse oxidativo e inflamatório, causados no testículo pelo diabetes.

2.2.2 *Vesícula seminal e Próstata*

A vesícula seminal é uma das glândulas sexuais acessórias masculinas que desempenham um papel importante no sistema reprodutor masculino. Possui como função principal a produção e secreção do fluido seminal viscoso e alcalino, que compõe a maioria do sêmen ejaculado, fornecendo nutrientes (frutose), proteção (antibacteriana), alcalinização (trato genital feminino), formação do coágulo seminal, atua na motilidade e capacitação espermática (Figura 4), atenuando a reprodução bem-sucedida (Aumüller and Riva, 2009; Clavert et al., 1990).

A próstata desempenha um papel crucial na produção do plasma seminal (Figura 4), liberando fluidos durante a ejaculação que se misturam com os espermatozoides e com os fluidos de outras glândulas sexuais acessórias masculinas, como as vesículas seminais, a qual compartilha funções importantes para o sêmen. O fluido prostático é importante na disponibilização de nutrientes essenciais, como frutose, ácido ascórbico e zinco (viabilidade espermática), proteção contra pH ácido da vagina e o sistema imunológico feminino, ativação dos espermatozoides, lubrificação pelo colo do útero, todos esses fatores viabilizam a fertilização (Aalberts et al., 2014; Yeung, 1998; Zhao et al., 2016).

A próstata é uma glândula, localizada abaixo da bexiga e ao redor da uretra masculina (Seisen et al., 2012). No rato Wistar é composta por quatro lobos principais, chamados de lobo anterior, lobo posterior e dois lobos dorsais. Esses lobos estão localizados de maneira simétrica ao redor da uretra (Figura 3) (Jesik et al., 1982). Além disso, problemas na próstata, como a hiperplasia benigna da próstata (HBP) ou o câncer de próstata, podem afetar a produção e a qualidade do sêmen, bem como interferir na função reprodutiva (Verze et al., 2016). Por isso, é importante entender quais as afecções podem ser causadas pela obesidade e diabetes.

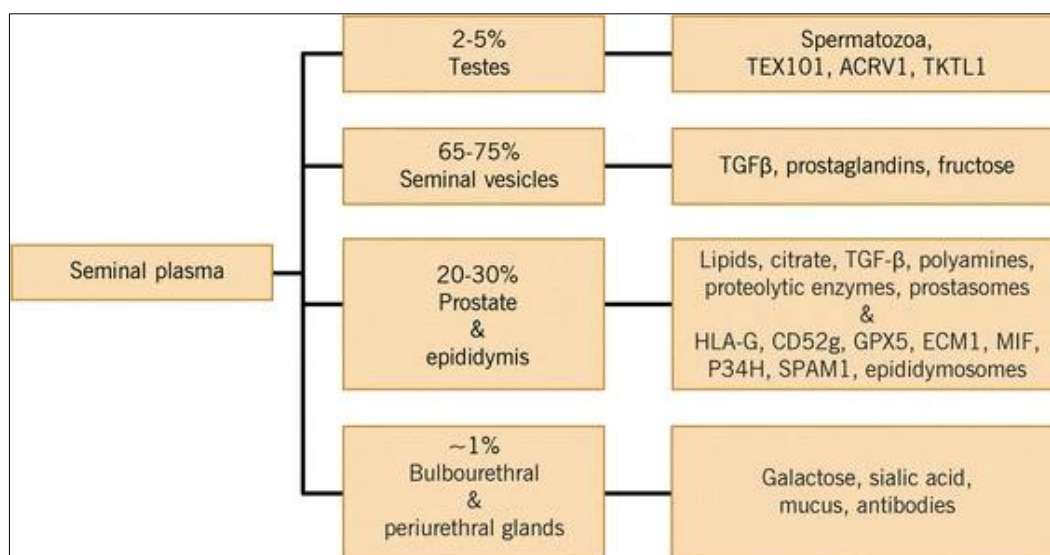


Figura 4. Composição do plasma seminal humano, evidenciando que maior parte advém das vesículas seminais e próstata (Samanta et al., 2018).

Está bem estabelecido que as doenças metabólicas têm um impacto significativo nos órgãos reprodutivos masculinos, afetando suas funções de diversas maneiras. Estudos translacionais que utilizaram a indução de obesidade e diabetes como modelos experimentais relataram várias alterações nas vesículas seminais. Essas mudanças incluem: redução no peso das vesículas seminais (Yannasithinon; Iamsaard, 2019; Sampanang et al., 2017; Tsounapi et al., 2017), alterações na histologia, como a presença de vacuolizações e núcleos hipercromáticos nas células epiteliais, além do espessamento da camada muscular circular interna e desorganização da camada muscular longitudinal (Yannasithinon; Iamsaard, 2019; Tsounapi et al., 2017), aumento na expressão da proteína seminal *tyrosine-phosphorylated*, demonstrada através de *western blotting* (Yannasithinon; Iamsaard, 2019), aumento de marcadores de estresse oxidativo, como *Cleaved caspase-3*, 4-HNE (*4-hidroxinonenal*), MDA (malondialdeído) e 8-OHdG (*8-hidroxi-2'-deoxiguanosina*), juntamente com a redução abrupta dos níveis séricos de testosterona, pode ser significativa em relação ao câncer de próstata, especialmente em indivíduos obesos e diabéticos (Tsounapi et al., 2017).

O câncer de próstata está fortemente associado as doenças metabólicas. A obesidade, especialmente quando combinada com ganho de peso a longo prazo, está relacionada a um maior risco de câncer de próstata fatal, particularmente em homens com peso inicialmente mais elevado. A relação entre o ganho de peso, o IMC e o câncer de

próstata fatal foram mais fortes em homens que tinham um IMC maior do que 25 na idade de 21 anos.

Esses resultados destacam a importância da compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos nessas alterações (Dickerman et al., 2017). Existe uma associação significativa entre o Índice de Adiposidade Visceral e o aumento do volume da próstata em homens obesos. Isso sugere que o acúmulo de tecido adiposo visceral pode desempenhar um papel na hiperplasia prostática benigna (Besiroglu et al., 2018).

Homens com níveis elevados de glicose no sangue (diabetes) apresentaram um risco aumentado de câncer de próstata em comparação com os normoglicêmicos. O diabetes pode ser um fator de risco para o câncer de próstata, independentemente de quão agressiva seja a doença, a longo prazo (Murtola et al., 2018). A atividade da proteína quinase C (PKC) nas células epiteliais prostáticas de ratos é afetada pelo diabetes, levando a uma redistribuição da PKC e a diferentes requisitos de cofatores para a ativação enzimática. Isso pode estar relacionado à atrofia da próstata e à fertilidade prejudicada observada em pacientes com diabetes (Garcia-Paramio et al., 1993).

Os efeitos do *diabetes mellitus* experimentalmente induzido em ratos machos, estava associado a uma redução nos níveis séricos de gonadotrofinas (LH e FSH) e testosterona, bem como à diminuição do peso dos órgãos sexuais acessórios (vesículas seminais e glândulas prostáticas ventrais) (Jackson and Hutson, 1984). Ratos Wistar que foram copuladas com machos diabéticos, resultou em nenhum recém-nascido (Tsounapi et al., 2017). Os órgãos sexuais acessórios masculinos são amplamente influenciados pelos hormônios andrógenos, sendo essenciais para o crescimento, manutenção e função secretora adequada desses órgãos (Kochakian, 1973).

Os estudos proteômico das próstatas em obesos e diabéticos ou não, buscam compreender as relações entre essas condições de saúde e o desenvolvimento do câncer de próstata em sua maioria, embora sejam relacionadas ao funcionamento da glândula, a identificação é feita de marcadores proteicos que podem ser úteis na detecção precoce do câncer, como no desenvolvimento de tratamentos direcionados a essas proteínas específicas.

Em animais com síndrome metabólica induzida, foram encontrado o aumento a ativação de marcadores de sinalização celular, incluindo Akt (Proteína quinase B), mTORC1 (Complexo alvo da rapamicina na mTOR, subunidade 1), STAT3 (Fator de transcrição 3 ativado por sinalização de janus quinase) e NFκB (Fator de transcrição nuclear κB p65) na próstata ventral em camundongos submetidos ao regime de obesidade

induzida por dieta, esses processos de sinalização estão hiperativados, contribuindo para a progressão do câncer de próstata. Além disso, os níveis de mRNA para várias citocinas, incluindo interleucina (IL) 1 α , IL1 β , IL6, IL7, IL23, IL27, NF κ B1 (p50), TNF α e membros da família VEGF, foram significativamente aumentados na próstata ventral do grupo obeso, quando comparados ao controle (Blando et al., 2011; Leisegang et al., 2016).

Pei et al., 2013 indicam que o diabetes pode estar associado à diminuição do volume de secreções da próstata e das vesículas seminais em ratos, e essa redução pode ser parcialmente explicada pela diminuição na expressão das aquaporinas (AQPs) 1, 3 e 4 na próstata, bem como das AQPs 1 e 4 nas vesículas seminais. Esses resultados fornecem insights valiosos para a compreensão das alterações na função reprodutiva associadas ao diabetes.

As informações proteômicas específicas sobre a próstata e as vesículas seminais de indivíduos obesos e diabéticos podem ser limitadas ou inexistentes. A pesquisa em proteômica é um campo em constante evolução, e a disponibilidade de dados pode variar dependendo do tema e do foco dos estudos. A proteômica do sistema reprodutor masculino associado somente a comorbidades metabólicas, está em progressão, mesmo na análise dos espermatozoides e testículos, existem poucos estudos (tabela 1).

Tabela 1. Estudos utilizando abordagem proteômica em obesos e diabéticos

Grupo estudado	Nº de proteínas com diferentes abundâncias/grupo	Proteínas mais abundantes	Proteínas menos abundantes	Modelo de estudo (amostra biológica)	Conclusões do estudo	Autores
Obesos Diabéticos tipo 1 Normozoospermicos	2 2 5	-	-	Homens (espermatozoides)	O estudo apenas conclui que diferenças na expressão proteica podem reverter alterações na infertilidade, em futuros estudos	(Kriegel et al., 2009)
Obesos Diabéticos tipo 1 Diabéticos tipo 2 Normozoospermicos	13 8 7 21	<i>Semenogelin-1; clusterin; lactotransferrin;</i>	<i>β-galactosidase-1</i>	Homens (espermatozoides)	Fertilização, proteção espermática, regulação da motilidade e reação do acrossomo	(Paasch et al., 2011)
Obesos com astenozoospermia Normozoospermicos	3 3	-	<i>Endoplasmic reticulum chaperone; protein disulfide isomerase; actin-binding proteins</i>	Homens (espermatozoides)	Citoesqueleto, sistema de endomembrana, metabolismo celular, fertilidade, motilidade	(Liu et al., 2014)
Diabéticos Normal	6 6	<i>Serpin B3; Olfactomedin-4; Heat; Vimentin; Serum amyloid P-component; Eukaryotic translation initiation factor 3; shock protein 90-alpha; Serpin B3; Apoptosis-inducing factor; mitochondrial 1</i>	<i>Cystatin-C; Alpha-1- antitrypsin; tyrosine kinase 1; Mitochondrial complex 1; Lon peptidase 1; mitochondrial; Cystatin-C; ADipeptidyl peptidase 4</i>	Homens (espermatozoides)	Metabolismo energético, motilidade	(An et al., 2017)
Obeso Controle	7 7	<i>Serine protease inhibitor Kazal-type 2</i>	<i>Cysteine-rich secretory protein 1</i>	<i>Sprague dawley</i> (testículos)	Maturação espermática, complexo de Golgi, Formação do acrossoma, espermatogênese, fertilização	(Xiu-Yan et al., 2018)
Obesos Controle	37 37	<i>A Centrin-1 (CETN1) e Centrosome and Spindle Pole Associated Protein 1</i>	-	Camundongos C57BL (espermatozoides)	Citoesqueleto, Espermiogênese, motilidade, fertilidade	(Peng et al., 2019)
Obesos Controle	27 20	<i>Ig gamma-1 chain C region, Plasma protease C1 inhibitor, Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5, Ig lambda-3 chain C regions, Complement factor B, Ig kappa chain C region, Ig heavy chain VIII region BRO, Ceruloplasmin, Complement C3, Ig alpha-1 chain C region, Prostate stem cell antigen, Complement C4B, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, Olfactomedin-4, Probable serine carboxypeptidase CPVL, Neutrophil defensin 3, Protein S100A8, Protein S100A9, Myeloperoxidase, SEC14-like protein 3</i>	<i>Brain-specific serine protease 4; Cysteine-rich secretory protein LCCL domain</i>	Homens (plasma seminal)	Morfologia, atividade mitocondrial, integridade do acrossoma, fragmentação do DNA. Além disso, estresse oxidativo, mecanismos apoptóticos.	(Ferigolo et al., 2019)
Obesos Controle	13 13	<i>Filamin-A Actin-binding protein 280; Apolipoprotein A-I; Sterol regulatory element-binding protein 2; Spermatogenesis-associated protein 20</i>	<i>Nephrocystin-4; Paraspeckle component 1</i>	Camundongos C57BL/6 (testículos)	Barreira sanguínea testicular, estresse oxidativo, espermatogênese, homeostase lipídica	(Jarvis et al., 2020)
Obesos Controle	5 5	<i>NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 2; mitochondrial; protein jagunal homolog 1</i>	<i>Leukotriene A-4 hydrolase; eukaryotic initiation factor 4A-II; glutathione synthetase</i>	Homens (espermatozoides)	Inflamação, estresse oxidativo, capacitação espermatogênese, motilidade, fertilidade	(Pini et al., 2020)
Controle Obesos Diabético	10 10 10	15	15	Wistar (espermatozóide)		(Carvalho et al., 2021)

3 HIPÓTESE

A obesidade e o diabetes, devido às suas implicações sistêmicas, alteram a função testicular e das glândulas sexuais acessórias, como a próstata e a vesícula seminal. Isso, por sua vez, pode levar a mudanças na tradução de proteínas nessas estruturas, afetando a saúde reprodutiva masculina e potencialmente contribuindo para problemas de fertilidade e reprodução em indivíduos com essas condições médicas.

4 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos sistêmicos da obesidade e do diabetes na função testicular, próstata e vesícula seminal, por meio da proteômica, com abordagem translacional, para identificar proteínas diferencialmente abundantes entre os grupos e propor possíveis biomarcadores para o diagnóstico ou prognóstico da infertilidade masculina.

5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar uma análise proteômica global do tecido testicular, próstata e vesícula seminal de ratos obesos e diabéticos
- ✓ Comparar o perfil proteômico entre os grupos para identificar proteínas diferencialmente abundantes.
- ✓ Propor proteínas validadas como possíveis biomarcadores da infertilidade masculina em indivíduos afetados por obesidade e diabetes.
- ✓ Compreender os efeitos sistêmicos da obesidade e do diabetes na função testicular, próstata e vesícula seminal.

6 REFERÊNCIAS

Aalberts M, Stout TAE, Stoorvogel W. Prostatosomes: extracellular vesicles from the prostate. *REPRODUCTION* 2014;147:R1–14. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0358>.

Aaron-Brooks LM, Sasaki T, Vickman RE, Wei L, Franco OE, Ji Y, et al. Hyperglycemia and T Cell infiltration are associated with stromal and epithelial prostatic hyperplasia in the nonobese diabetic mouse. *Prostate* 2019;79:980–93. <https://doi.org/10.1002/pros.23809>.

Abbas W, Kumar A, Herbein G. The eEF1A Proteins: At the Crossroads of Oncogenesis, Apoptosis, and Viral Infections. *Front Oncol* 2015;5. <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00075>.

Ajayi AF, Lateef OM, Adebayo OI, Adebayo ET. Hsps70 and 90 protect the heart of hyperthyroid rats via nitric oxide production and VEGF inhibition of apoptosis. *Endocrine and Metabolic Science* 2021;4:100097. <https://doi.org/10.1016/j.endmts.2021.100097>.

Alberti KGMM, Zimmet PZ. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications, 1999, p. 49. <https://doi.org/WHO/NCD/NCS/99.2>.

Almanza A, Carlesso A, Chintha C, Creedican S, Doultzinos D, Leuzzi B, et al. Endoplasmic reticulum stress signalling – from basic mechanisms to clinical applications. *FEBS J* 2019;286:241–78. <https://doi.org/10.1111/febs.14608>.

Alur M, Nguyen MM, Eggener SE, Jiang F, Dadras SS, Stern J, et al. Suppressive Roles of Calreticulin in Prostate Cancer Growth and Metastasis. *Am J Pathol* 2009;175:882–90. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080417>.

Alvarez-Rodríguez M, Alvarez M, Borrigan S, Martinez-Pastor F, Holt WV, Fazeli A, et al. The addition of heat shock protein HSPA8 to cryoprotective media improves the survival of brown bear (*Ursus arctos*) spermatozoa during chilling and after cryopreservation. *Theriogenology* 2013;79:541–50. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.006>.

An T, Zhang J, Ma Y, Lian J, Wu Y-X, Lv B-H, et al. Relationships of Non-coding RNA with diabetes and depression. *Sci Rep* 2019;9:10707. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47077-9>.

Anamthakmakula P, Erickson JA, Winuthayanon W. Blocking serine protease activity prevents semenogelin degradation leading to hyperviscous semen in humans. *Biol Reprod* 2022;106:879–87. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioac023>.

Araki N, Kawano N, Kang W, Miyado K, Yoshida K, Yoshida M. Seminal vesicle proteins SVS3 and SVS4 facilitate SVS2 effect on sperm capacitation. *Reproduction* 2016;152:313–21. <https://doi.org/10.1530/REP-15-0551>.

Arispe N, Doh M, Simakova O, Kurganov B, Maio A De. Hsc70 and Hsp70 interact with phosphatidylserine on the surface of PC12 cells resulting in a decrease of viability. *The FASEB Journal* 2004;18:1636–45. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2088com>.

Aumüller G, Riva A. Morphology and functions of the human seminal vesicle. *Andrologia* 2009;24:183–96. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1992.tb02636.x>.

Aziz NM, Kamel MY, Mohamed MS, Ahmed SM. Antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects of zinc supplementation in testes of rats with experimentally induced diabetes. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2018;43:1010–8. <https://doi.org/10.1139/apnm-2018-0070>.

Baker SS, Cardullo RA, Thaler CD. Sonication of Mouse Sperm Membranes Reveals Distinct Protein Domains1. *Biol Reprod* 2002;66:57–64. <https://doi.org/10.1095/biolreprod66.1.57>.

Besiroglu H, Ozbek E, Dursun M, Otunctemur A. Visceral adiposity index is associated with benign prostatic enlargement in non-diabetic patients: a cross-sectional study. *The Aging Male* 2018;21:40–7. <https://doi.org/10.1080/13685538.2017.1365833>.

Bezerra MJB, Arruda-Alencar JM, Martins JAM, Viana AGA, Viana Neto AM, Rêgo JPA, et al. Major seminal plasma proteome of rabbits and associations with sperm quality. *Theriogenology* 2019;128:156–66. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.01.013>.

Bicudo SD, Siqueira JB, Meira C. Patologias do sistema reprodutor de touros. *Biológico* 2007;69:43–8.

Blando J, Moore T, Hursting S, Jiang G, Saha A, Beltran L, et al. Dietary Energy Balance Modulates Prostate Cancer Progression in Hi-Myc Mice. *Cancer Prevention Research* 2011;4:2002–14. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0182>.

Blochberger TC, Vergnes JP, Hempel J, Hassell JR. cDNA to chick lumican (corneal keratan sulfate proteoglycan) reveals homology to the small interstitial proteoglycan gene family and expression in muscle and intestine. *J Biol Chem* 1992;267:347–52.

Boden G, Duan X, Homko C, Molina EJ, Song W, Perez O, et al. Increase in Endoplasmic Reticulum Stress–Related Proteins and Genes in Adipose Tissue of Obese,

Insulin-Resistant Individuals. *Diabetes* 2008;57:2438–44. <https://doi.org/10.2337/db08-0604>.

Bouker A, Halouani L, Kharouf M, Latrous H, Makni M, Marrakchi O, et al. Step-by-step loupes-mTESE in non-obstructive azoospermic men, a retrospective study. *Basic Clin Androl* 2019;29:11. <https://doi.org/10.1186/s12610-019-0091-9>.

Campbell KR, Chaudhary R, Montano M, Iozzo R V., Bushman WA, Campagnola PJ. Second-harmonic generation microscopy analysis reveals proteoglycan decorin is necessary for proper collagen organization in prostate. *J Biomed Opt* 2019;24:1. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.24.6.066501>.

Carvalho MDGDC, Carvalho JF, Merrick WC. Biological characterization of various forms of elongation factor 1 from rabbit reticulocytes. *Arch Biochem Biophys* 1984;234:603–11. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(84\)90310-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(84)90310-2).

Carvalho MG, Silva KM, Aristizabal VHV, Ortiz PEO, Paranzini CS, Melchert A, et al. Effects of Obesity and Diabetes on Sperm Cell Proteomics in Rats. *J Proteome Res* 2021;20:2628–42. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c01044>.

Cheng L, Sun P, Xie X, Sun D, Zhou Q, Yang S, et al. Hepatitis B virus surface protein induces oxidative stress by increasing peroxides and inhibiting antioxidant defences in human spermatozoa. *Reprod Fertil Dev* 2020;32:1180. <https://doi.org/10.1071/RD20130>.

Chiu PCN, Chung M-K, Tsang H-Y, Koistinen R, Koistinen H, Seppala M, et al. Glycodelin-S in Human Seminal Plasma Reduces Cholesterol Efflux and Inhibits Capacitation of Spermatozoa. *Journal of Biological Chemistry* 2005;280:25580–9. <https://doi.org/10.1074/jbc.M504103200>.

Clavert A, Cranz C, Bollack C. Functions of the seminal vesicle: Funktionen der Bläschendrüse. *Andrologia* 1990;22:185–92. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1990.tb02084.x>.

Cui W. Mother of nothing: the agony of infertility. *Bull World Health Organ* 2010;88:881–2. <https://doi.org/10.2471/BLT.10.011210>.

Cultrara CN, Kozuch SD, Ramasundaram P, Heller CJ, Shah S, Beck AE, et al. GRP78 modulates cell adhesion markers in prostate Cancer and multiple myeloma cell lines. *BMC Cancer* 2018;18:1263. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5178-8>.

Curci L, Brukman NG, Weigel Muñoz M, Rojo D, Carvajal G, Sulzyk V, et al. Functional redundancy and compensation: Deletion of multiple murine *Crisp* genes

reveals their essential role for male fertility. *The FASEB Journal* 2020;34:15718–33. <https://doi.org/10.1096/fj.202001406R>.

Dickerman BA, Ahearn TU, Giovannucci E, Stampfer MJ, Nguyen PL, Mucci LA, et al. Weight change, obesity and risk of prostate cancer progression among men with clinically localized prostate cancer. *Int J Cancer* 2017;141:933–44. <https://doi.org/10.1002/ijc.30803>.

Ebert B, Kisiela M, Malátková P, El-Hawari Y, Maser E. Regulation of Human Carbonyl Reductase 3 (CBR3; SDR21C2) Expression by Nrf2 in Cultured Cancer Cells. *Biochemistry* 2010;49:8499–511. <https://doi.org/10.1021/bi100814d>.

Elango K, Karuthadurai T, Kumaresan A, Sinha MK, Ebenezer Samuel King JP, Nag P, et al. High-throughput proteomic characterization of seminal plasma from bulls with contrasting semen quality. *3 Biotech* 2023a;13:60. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03474-6>.

Elango K, Karuthadurai T, Kumaresan A, Sinha MK, Ebenezer Samuel King JP, Nag P, et al. High-throughput proteomic characterization of seminal plasma from bulls with contrasting semen quality. *3 Biotech* 2023b;13:60. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03474-6>.

ElBanna AH, Osman AS, Hossny A, ElBanna H, Abo El-Ela FI. Dose-dependent effects of taurine against testicular damage in a streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus rat model. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2023;37:039463202311727. <https://doi.org/10.1177/03946320231172745>.

Elliott RMA, Lloyd RE, Fazeli A, Sostaric E, Georgiou AS, Satake N, et al. Effects of HSPA8, an evolutionarily conserved oviductal protein, on boar and bull spermatozoa. *REPRODUCTION* 2009;137:191–203. <https://doi.org/10.1530/REP-08-0298>.

Erata GÖ, Koçak Toker N, Durlanık Ö, Kadioğlu A, Aktan G, Aykaç Toker G. The role of heat shock protein 70 (Hsp 70) in male infertility: is it a line of defense against sperm DNA fragmentation? *Fertil Steril* 2008;90:322–7. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.06.021>.

Fan L, Goh B-C, Wong C-I, Sukri N, Lim S-E, Tan S-H, et al. Genotype of human carbonyl reductase CBR3 correlates with doxorubicin disposition and toxicity. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18:623–31. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328301a869>.

Fan Y, Guo Y, Hamblin M, Chang L, Zhang J, Chen YE. Inhibition of Gluconeogenic Genes by Calcium-regulated Heat-stable Protein 1 via Repression of

Peroxisome Proliferator-activated Receptor α . *Journal of Biological Chemistry* 2011;286:40584–94. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.232918>.

Ferdous Z, Wei VM, Iozzo R, Höök M, Grande-Allen KJ. Decorin-transforming Growth Factor- β Interaction Regulates Matrix Organization and Mechanical Characteristics of Three-dimensional Collagen Matrices. *Journal of Biological Chemistry* 2007;282:35887–98. <https://doi.org/10.1074/jbc.M705180200>.

Feske S, Wulff H, Skolnik EY. Ion Channels in Innate and Adaptive Immunity. *Annu Rev Immunol* 2015;33:291–353. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112212>.

Ficarro S, Chertihin O, Westbrook VA, White F, Jayes F, Kalab P, et al. Phosphoproteome Analysis of Capacitated Human Sperm. *Journal of Biological Chemistry* 2003;278:11579–89. <https://doi.org/10.1074/jbc.M202325200>.

Fontana C. Tipos de diabetes 2023. <https://www.euroclinx.net/pt/diabetes/tipos-de-diabetes> (accessed August 22, 2023).

Fujihara Y, Noda T, Kobayashi K, Oji A, Kobayashi S, Matsumura T, et al. Identification of multiple male reproductive tract-specific proteins that regulate sperm migration through the oviduct in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2019;116:18498–506. <https://doi.org/10.1073/pnas.1908736116>.

Furmanik M, van Gorp R, Whitehead M, Ahmad S, Bordoloi J, Kapustin A, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Mediates Vascular Smooth Muscle Cell Calcification via Increased Release of Grp78 (Glucose-Regulated Protein, 78 kDa)-Loaded Extracellular Vesicles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2021;41:898–914. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.120.315506>.

Garciaparamio P, Carmena MJ, Gutierrezocana MT, Recio MN, Prieto JC. Alteration of Protein Kinase C Activity in Diabetic Rat Prostate. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;195:166–72. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.2025>.

Ge T, Yuan L, Xu L, Yang F, Xu W, Niu C, et al. Coiled-coil domain containing 159 (CCDC159) is required for spermatid head and tail assembly in mice. *Biol Reprod* 2024. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioae012>.

van Gestel RA, Brewis IA, Ashton PR, Brouwers JF, Gadella BM. Multiple proteins present in purified porcine sperm apical plasma membranes interact with the zona pellucida of the oocyte. *MHR: Basic Science of Reproductive Medicine* 2007;13:445–54. <https://doi.org/10.1093/molehr/gam030>.

Ghaderi S, Ahmadian S, Soheili Z, Ahmadi H, Samiei S, Kheitan S, et al. AAV delivery of GRP78/BiP promotes adaptation of human RPE cell to ER stress. *J Cell Biochem* 2018;119:1355–67. <https://doi.org/10.1002/jcb.26296>.

Gomes FP, Park R, Viana AG, Fernandez-Costa C, Topper E, Kaya A, et al. Protein signatures of seminal plasma from bulls with contrasting frozen-thawed sperm viability. *Sci Rep* 2020;10:14661. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71015-9>.

Greenberg NM, DeMayo FJ, Sheppard PC, Barrios R, Lebovitz R, Finegold M, et al. The rat probasin gene promoter directs hormonally and developmentally regulated expression of a heterologous gene specifically to the prostate in transgenic mice. *Molecular Endocrinology* 1994;8:230–9. <https://doi.org/10.1210/mend.8.2.8170479>.

Groblewski GE, Yoshida M, Bragado MJ, Ernst SA, Leykam J, Williams JA. Purification and Characterization of a Novel Physiological Substrate for Calcineurin in Mammalian Cells. *Journal of Biological Chemistry* 1998;273:22738–44. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.35.22738>.

Gruber CW, Čemažar M, Heras B, Martin JL, Craik DJ. Protein disulfide isomerase: the structure of oxidative folding. *Trends Biochem Sci* 2006;31:455–64. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.06.001>.

Heryanto A, I Gusti Ngurah Pramesemara, Yukhi Kurniawan, I Gusti Ayu Widiyanti. Relationship Between Body Mass Index and Male Infertility at Kasih Ibu General Hospital Denpasar. *Indonesian Andrology and Biomedical Journal* 2022;3:1–6. <https://doi.org/10.20473/iabj.v3i1.35876>.

Heutinck KM, ten Berge IJM, Hack CE, Hamann J, Rowshani AT. Serine proteases of the human immune system in health and disease. *Mol Immunol* 2010;47:1943–55. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2010.04.020>.

Hiller-Sturmhöfel S, Bartke A. The endocrine system: an overview. *Alcohol Health Res World* 1998;22:153–64.

Holland JW, Meehan KL, Redmond SL, Dawkins HJS. Purification of the keratan sulfate proteoglycan expressed in prostatic secretory cells and its identification as lumican. *Prostate* 2004;59:252–9. <https://doi.org/10.1002/pros.20002>.

Holt M. Cell motility: proline-rich proteins promote protrusions. *Trends Cell Biol* 2001;11:38–46. [https://doi.org/10.1016/S0962-8924\(00\)01876-6](https://doi.org/10.1016/S0962-8924(00)01876-6).

Hou H, Wang F, Zhang W, Wang D, Li X, Bartlam M, et al. Structure-Functional Analyses of CRHSP-24 Plasticity and Dynamics in Oxidative Stress Response. *Journal of Biological Chemistry* 2011;286:9623–35. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.177436>.

Hu Y, Sun H, Owens RT, Wu J, Chen YQ, Berquin IM, et al. Decorin Suppresses Prostate Tumor Growth through Inhibition of Epidermal Growth Factor and Androgen Receptor Pathways. *Neoplasia* 2009;11:1042–53. <https://doi.org/10.1593/neo.09760>.

Huang SY, Kuo YH, Lee WC, Tsou HL, Lee YP, Chang HL, et al. Substantial decrease of heat-shock protein 90 precedes the decline of sperm motility during cooling of boar spermatozoa. *Theriogenology* 1999;51:1007–16. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00046-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00046-1).

Huang SY, Kuo YH, Lee YP, Tsou HL, Lin EC, Ju CC, et al. Association of heat shock protein 70 with semen quality in boars. *Anim Reprod Sci* 2000;63:231–40. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00175-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00175-5).

Inoue N, Ikawa M, Nakanishi T, Matsumoto M, Nomura M, Seya T, et al. Disruption of Mouse CD46 Causes an Accelerated Spontaneous Acrosome Reaction in Sperm. *Mol Cell Biol* 2003;23:2614–22. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.7.2614-2622.2003>.

Iso-Touru T, Wurmser C, Venhoranta H, Hiltbold M, Savolainen T, Sironen A, et al. A splice donor variant in CCDC189 is associated with asthenospermia in Nordic Red dairy cattle. *BMC Genomics* 2019;20:286. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5628-y>.

Jackson FL, Hutson JC. Altered Responses to Androgen in Diabetic Male Rats. *Diabetes* 1984;33:819–24. <https://doi.org/10.2337/diab.33.9.819>.

Jakobs C, Bartok E, Kubarenko A, Bauernfeind F, Hornung V. Immunoblotting for Active Caspase-1. *Methods in Molecular Biology*, vol. 1040. Clifton, N.J., New York : 2013, p. 103–15. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-523-1_9.

Jarvis S, Gethings LA, Samanta L, Pedroni SMA, Withers DJ, Gray N, et al. High fat diet causes distinct aberrations in the testicular proteome. *Int J Obes* 2020;44:1958–69. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-0595-6>.

Jesik CJ, Holland JM, Lee C. An anatomic and histologic study of the rat prostate. *Prostate* 1982;3:81–97. <https://doi.org/10.1002/pros.2990030111>.

Kherraf Z, Christou-Kent M, Karaouzene T, Amiri-Yekta A, Martinez G, Vargas AS, et al. SPINK2 deficiency causes infertility by inducing sperm defects in heterozygotes and azoospermia in homozygotes. *EMBO Mol Med* 2017;9:1132–49. <https://doi.org/10.15252/emmm.201607461>.

Kim J-H, Park S-J, Kim T-S, Park H-J, Park J, Kim BK, et al. Testicular hyperthermia induces Unfolded Protein Response signaling activation in spermatocyte.

Biochem Biophys Res Commun 2013;434:861–6.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.04.032>.

KOCHAKIAN CD. Hypotaurine: Regulation of Production in Seminal Vesicles and Prostate of Guinea-pig by Testosterone. *Nature* 1973;241:202–3.
<https://doi.org/10.1038/241202a0>.

Koninger J. The ECM proteoglycan decorin links desmoplasia and inflammation in chronic pancreatitis. *J Clin Pathol* 2006;59:21–7.
<https://doi.org/10.1136/jcp.2004.023135>.

Kornberg RD. Structure of Chromatin. *Annu Rev Biochem* 1977;46:931–54.
<https://doi.org/10.1146/annurev.bi.46.070177.004435>.

Lallet-Daher H, Roudbaraki M, Bavencoffe A, Mariot P, Gackière F, Bidaux G, et al. Intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels (IKCa1) regulate human prostate cancer cell proliferation through a close control of calcium entry. *Oncogene* 2009;28:1792–806. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.25>.

Lea OA, Petrusz P, French FS. Prostatein. A major secretory protein of the rat ventral prostate. *J Biol Chem* 1979;254:6196–202.

Leisegang K, Bouic PJD, Henkel RR. Metabolic syndrome is associated with increased seminal inflammatory cytokines and reproductive dysfunction in a case-controlled male cohort. *American Journal of Reproductive Immunology* 2016;76:155–63.
<https://doi.org/10.1111/aji.12529>.

Lin M-H, Lee RK-K, Hwu Y-M, Lu C-H, Chu S-L, Chen Y-J, et al. SPINKL, a Kazal-type serine protease inhibitor-like protein purified from mouse seminal vesicle fluid, is able to inhibit sperm capacitation. *REPRODUCTION* 2008a;136:559–71.
<https://doi.org/10.1530/REP-07-0375>.

Lin M-H, Lee RK-K, Hwu Y-M, Lu C-H, Chu S-L, Chen Y-J, et al. SPINKL, a Kazal-type serine protease inhibitor-like protein purified from mouse seminal vesicle fluid, is able to inhibit sperm capacitation. *REPRODUCTION* 2008b;136:559–71.
<https://doi.org/10.1530/REP-07-0375>.

Lin S-R, Li Y-C, Luo M-L, Guo H, Wang T-T, Chen J-B, et al. Identification and characteristics of the testes-specific gene, *Ccdc38*, in mice. *Mol Med Rep* 2016;14:1290–6. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5360>.

Liu J, Yin G, Hu K, Huang H, Xu F, Yang Y, et al. Parental uveitis causes elevated hair loss in offspring of C57BL/6J mice. *Exp Eye Res* 2022;219:109056.
<https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109056>.

Lloyd RE, Fazeli A, Watson PF, Holt W V. The oviducal protein, heat-shock 70-kDa protein 8, improves the long-term survival of ram spermatozoa during storage at 17°C in a commercial extender. *Reprod Fertil Dev* 2012;24:543. <https://doi.org/10.1071/RD11173>.

Lobstein T, Jackson-Leach R, Powis J, Brinsden H, Gray M. Country scorecards. *World Obesity Atlas 2023*, vol. 5, 2023, p. 60.

Long L, Qiu H, Cai B, Chen N, Lu X, Zheng S, et al. Hyperglycemia induced testicular damage in type 2 diabetes mellitus rats exhibiting microcirculation impairments associated with vascular endothelial growth factor decreased via PI3K/Akt pathway. *Oncotarget* 2018;9:5321–36. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23915>.

Lu A, Pallero MA, Owusu BY, Borovjagin A V., Lei W, Sanders PW, et al. Calreticulin is important for the development of renal fibrosis and dysfunction in diabetic nephropathy. *Matrix Biol Plus* 2020;8:100034. <https://doi.org/10.1016/j.mbplus.2020.100034>.

Lu C-H, Lee RK-K, Hwu Y-M, Chu S-L, Chen Y-J, Chang W-C, et al. SERPINE2, a Serine Protease Inhibitor Extensively Expressed in Adult Male Mouse Reproductive Tissues, May Serve as a Murine Sperm Decapacitation Factor1. *Biol Reprod* 2011;84:514–25. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.085100>.

Luo J, Dunn T, Ewing C, Sauvageot J, Chen Y, Trent J, et al. Gene expression signature of benign prostatic hyperplasia revealed by cDNA microarray analysis. *Prostate* 2002;51:189–200. <https://doi.org/10.1002/pros.10087>.

Luo S, Wehr NB, Levine RL. Quantitation of protein on gels and blots by infrared fluorescence of Coomassie blue and Fast Green. *Anal Biochem* 2006;350:233–8. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.10.048>.

Lv Z-M, Ling M-Y, Chen C. Comparative proteomics reveals protective effect of resveratrol on a high-fat diet-induced damage to mice testis. *Syst Biol Reprod Med* 2020;66:37–49. <https://doi.org/10.1080/19396368.2019.1701138>.

Ma L, Yu H, Ni Z, Hu S, Ma W, Chu C, et al. Spink13, an Epididymis-specific Gene of the Kazal-type Serine Protease Inhibitor (SPINK) Family, Is Essential for the Acrosomal Integrity and Male Fertility. *Journal of Biological Chemistry* 2013;288:10154–65. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.445866>.

Mahajan K, Malla P, Lawrence HR, Chen Z, Kumar-Sinha C, Malik R, et al. ACK1/TNK2 Regulates Histone H4 Tyr88-phosphorylation and AR Gene Expression in

Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cancer Cell* 2017;31:790-803.e8. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.05.003>.

Manandhar G, Miranda-Vizuet A, Pedrajas JR, Krause WJ, Zimmerman S, Sutovsky M, et al. Peroxiredoxin 2 and Peroxidase Enzymatic Activity of Mammalian Spermatozoa1. *Biol Reprod* 2009;80:1168–77. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.071738>.

Marques MB, Langouche L. Endocrine, metabolic, and morphologic alterations of adipose tissue during critical illness. *Crit Care Med* 2013;41:317–25. <https://doi.org/DOI:10.1097/CCM.0b013e318265f21c>.

de Mateo S, Castillo J, Estanyol JM, Ballescà JL, Oliva R. Proteomic characterization of the human sperm nucleus. *Proteomics* 2011;11:2714–26. <https://doi.org/10.1002/pmic.201000799>.

Matos F. Infertilidade: como enfrentar o diagnóstico e buscar o tratamento adequado 2019. <https://sbra.com.br/noticias/infertilidade-como-enfrentar-o-diagnostico-e-buscar-o-tratamento-adequado/> (accessed August 16, 2023).

Mcgee RS, Herr JC. Human Seminal Vesicle-Specific Antigen is a Substrate for Prostate-Specific Antigen (or P-30)1. *Biol Reprod* 1988;39:499–510. <https://doi.org/10.1095/biolreprod39.2.499>.

Mi K, Chen Y, Lizhong Z, Shuanying Y. RNA-binding Protein ZC3H18 Enhances Cell Proliferation and Metastasis in Lung Adenocarcinoma. *Mol Biol Rep* 2023;1:1–19. <https://doi.org/https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2783463/v1>.

Miura T, Nishinaka T, Terada T. Different functions between human monomeric carbonyl reductase 3 and carbonyl reductase 1. *Mol Cell Biochem* 2008;315:113–21. <https://doi.org/10.1007/s11010-008-9794-5>.

Mogielnicka-Brzozowska M, Fraser L, Dziekońska A, Gackowska K, Sobiewska M, Kuzborska A, et al. Identification of proteoforms of albumin and kallikrein in stallion seminal plasma and their correlations with sperm motility. *Pol J Vet Sci* 2019;227–227. <https://doi.org/10.24425/pjvs.2019.127090>.

Moradi M, Karimi J, Khodadadi I, Amiri I, Karami M, Saidijam M, et al. Evaluation of the p53 and Thioredoxin reductase in sperm from asthenozoospermic males in comparison to normozoospermic males. *Free Radic Biol Med* 2018;116:123–8. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.038>.

Motrich RD, Maccioni M, Ponce AA, Gatti GA, Oberti JPM, Rivero VE. Pathogenic Consequences in Semen Quality of an Autoimmune Response against the

Prostate Gland: From Animal Models to Human Disease. *The Journal of Immunology* 2006;177:957–67. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.2.957>.

Murer V, Spetz JF, Hengst U, Altrogge LM, de Agostini A, Monard D. Male fertility defects in mice lacking the serine protease inhibitor protease nexin-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2001;98:3029–33. <https://doi.org/10.1073/pnas.051630698>.

Murtola TJ, Vihervuori VJ, Lahtela J, Talala K, Taari K, Tammela TL, et al. Fasting blood glucose, glycaemic control and prostate cancer risk in the Finnish Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *Br J Cancer* 2018;118:1248–54. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0055-4>.

Neuhoff V, Stamm R, Eibl H. Clear background and highly sensitive protein staining with Coomassie Blue dyes in polyacrylamide gels: A systematic analysis. *Electrophoresis* 1985;6:427–48. <https://doi.org/10.1002/elps.1150060905>.

Noda T, Fujihara Y, Matsumura T, Oura S, Kobayashi S, Ikawa M. Seminal vesicle secretory protein 7, PATE4, is not required for sperm function but for copulatory plug formation to ensure fecundity†. *Biol Reprod* 2019;100:1035–45. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioy247>.

NUMEB. Insulina e Glucagon como modelos de estrutura protéica. Núcleo de Produção de Material Educacional e Divulgação Científica Em Biologia - FURG 2023. https://numeb.furg.br/index.php?option=com_content&view=article&id=41&Itemid (accessed August 22, 2023).

O’Flaherty C, Rico de Souza A. Hydrogen Peroxide Modifies Human Sperm Peroxiredoxins in a Dose-Dependent Manner. *Biol Reprod* 2011;84:238–47. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.085712>.

Ohmuraya M, Sugano A, Hirota M, Takaoka Y, Yamamura K. Role of Intrapancreatic SPINK1/Spink3 Expression in the Development of Pancreatitis. *Front Physiol* 2012;3. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00126>.

Ou C -M., Tang J -B., Huang M -S., Sudhakar Gandhi PS, Geetha S, Li S -H., et al. The mode of reproductive-derived Spink (serine protease inhibitor Kazal-type) action in the modulation of mammalian sperm activity. *Int J Androl* 2012;35:52–62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2011.01159.x>.

Page MJ, Di Cera E. Serine peptidases: Classification, structure and function. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2008;65:1220–36. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7565-9>.

Park Y-J, Pang M-G. Mitochondrial Functionality in Male Fertility: From Spermatogenesis to Fertilization. *Antioxidants* 2021;10:98. <https://doi.org/10.3390/antiox10010098>.

Parker M, Needham M, White R. Prostatic steroid binding protein: gene duplication and steroid binding. *Nature* 1982a;298:92–4. <https://doi.org/10.1038/298092a0>.

Parker M, Needham M, White R, Hurst H, Page M. Prostatic steroid binding protein: organisation of C1 and C2 genes. *Nucleic Acids Res* 1982b;10:5121–32. <https://doi.org/10.1093/nar/10.17.5121>.

Parmar KH, Singh V, Savsani HH, Kavani FS, Rajoriya JS, Lone SA. Seasonal variation in heat shock proteins (hsp70 and hsp90) and their association with frozen semen quality and fertility in buffaloes. *Cryo Letters* 2021;42:261–6.

Parte PP, Rao P, Redij S, Lobo V, D'Souza SJ, Gajbhiye R, et al. Sperm phosphoproteome profiling by ultra performance liquid chromatography followed by data independent analysis (LC–MSE) reveals altered proteomic signatures in asthenozoospermia. *J Proteomics* 2012;75:5861–71. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.07.003>.

Peach M, Marsh N, MacPhee DJ. Protein Solubilization: Attend to the Choice of Lysis Buffer. *Methods in Molecular Biology*, vol. 869. Humana Press, Totowa: 2012, p. 37–47. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-821-4_4.

Pedersen SD. Metabolic complications of obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013;27:179–93. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.02.004>.

Pei L, Yang G, Jiang J, Jiang R, Deng Q, Chen B, et al. Expression of Aquaporins in Prostate and Seminal Vesicles of Diabetic Rats. *J Sex Med* 2013;10:2975–85. <https://doi.org/10.1111/jsm.12276>.

Peng Q, Yang H, Xue S, Shi L, Yu Q, Kuang Y. Secretome profile of mouse oocytes after activation using mass spectrum. *J Assist Reprod Genet* 2012a;29:765–71. <https://doi.org/10.1007/s10815-012-9789-8>.

Peng Q, Yang H, Xue S, Shi L, Yu Q, Kuang Y. Secretome profile of mouse oocytes after activation using mass spectrum. *J Assist Reprod Genet* 2012b;29:765–71. <https://doi.org/10.1007/s10815-012-9789-8>.

Pérez-Patiño C, Parrilla I, Barranco I, Vergara-Barberán M, Simó-Alfonso EF, Herrero-Martínez JM, et al. New In-Depth Analytical Approach of the Porcine Seminal

Plasma Proteome Reveals Potential Fertility Biomarkers. *J Proteome Res* 2018;17:1065–76. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00728>.

Pfeiffer JR, McAvoy BL, Fecteau RE, Deleault KM, Brooks SA. CARHSP1 Is Required for Effective Tumor Necrosis Factor Alpha mRNA Stabilization and Localizes to Processing Bodies and Exosomes. *Mol Cell Biol* 2011;31:277–86. <https://doi.org/10.1128/MCB.00775-10>.

Pilatz A, Lochnit G, Karnati S, Paradowska-Dogan A, Lang T, Schultheiss D, et al. Acute epididymitis induces alterations in sperm protein composition. *Fertil Steril* 2014;101:1609-1617.e5. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.03.011>.

Powell MD, Read KA, Sreekumar BK, Oestreich KJ. Ikaros Zinc Finger Transcription Factors: Regulators of Cytokine Signaling Pathways and CD4+ T Helper Cell Differentiation. *Front Immunol* 2019;10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01299>.

Rakhra Gurseen, Rakhra Gurmeen. Zinc finger proteins: insights into the transcriptional and post transcriptional regulation of immune response. *Mol Biol Rep* 2021;48:5735–43. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06556-x>.

Rego JPA, Crisp JM, Moura AA, Nouwens AS, Li Y, Venus B, et al. Seminal plasma proteome of electroejaculated *Bos indicus* bulls. *Anim Reprod Sci* 2014;148:1–17. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.04.016>.

Riley LK, Rupert J. Evaluation of Patients with Leukocytosis. *Am Fam Physician* 2015;92:1004–11.

Ritchie H, Roser M. Obesity. *Our World in Data* 2020. <https://ourworldindata.org/obesity> (accessed March 21, 2021).

Robinson MB, Taylor AR, Gifondorwa DJ, Tytell M, Milligan CE. Exogenous Hsc70, but not thermal preconditioning, confers protection to motoneurons subjected to oxidative stress. *Dev Neurobiol* 2008;68:1–17. <https://doi.org/10.1002/dneu.20550>.

Roglic G, Unwin N, Bennett P, Mathers C, Tuomilehto J, Nag S, et al. The Burden of Mortality Attributable to Diabetes. *Diabetes Care* 2005;28:6.

Rusco G, Słowińska M, Di Iorio M, Cerolini S, Maffione AB, Ciereszko A, et al. Proteomic analysis of rabbit fresh and cryopreserved semen provides an important insight into molecular mechanisms of cryoinjuries to spermatozoa. *Theriogenology* 2022;191:77–95. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.07.018>.

Samanta L, Parida R, Dias TR, Agarwal A. The enigmatic seminal plasma: a proteomics insight from ejaculation to fertilization. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2018;16:41. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0358-6>.

Sampanang A, Arun S, Sukhorum W, Burawat J, Nualkaew S, Maneenin C, et al. Antioxidant and Hypoglycemic Effects of *Momordica cochinchinensis* Spreng: (Gac) Aril Extract on Reproductive Damages in Streptozotocin (STZ)-Induced Hyperglycemia Mice. *International Journal of Morphology* 2017;35:667–75. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000200046>.

Schon SB, Luense LJ, Wang X, Bartolomei MS, Coutifaris C, Garcia BA, et al. Histone modification signatures in human sperm distinguish clinical abnormalities. *J Assist Reprod Genet* 2019;36:267–75. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1354-7>.

Seisen T, Rouprêt M, Faix A, Droupy S. La prostate : une glande au carrefour urogénital. *Progrès En Urologie* 2012;22:S2–6. [https://doi.org/10.1016/S1166-7087\(12\)70028-3](https://doi.org/10.1016/S1166-7087(12)70028-3).

Sha Y, Xu Y, Wei X, Liu W, Mei L, Lin S, et al. CCDC9 is identified as a novel candidate gene of severe asthenozoospermia. *Syst Biol Reprod Med* 2019;65:465–73. <https://doi.org/10.1080/19396368.2019.1655812>.

Sharma R, Agarwal A, Mohanty G, Du Plessis SS, Gopalan B, Willard B, et al. Proteomic analysis of seminal fluid from men exhibiting oxidative stress. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2013;11:85. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-85>.

Sherman BT, Hao M, Qiu J, Jiao X, Baseler MW, Lane HC, et al. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). *Nucleic Acids Res* 2022;50:W216–21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac194>.

Shevchenko A, Wilm M, Vorm O, Mann M. Mass Spectrometric Sequencing of Proteins from Silver-Stained Polyacrylamide Gels. *Anal Chem* 1996;68:850–8. <https://doi.org/10.1021/ac950914h>.

Shi CY, Kingston ER, Kleaveland B, Lin DH, Stubna MW, Bartel DP. The ZSWIM8 ubiquitin ligase mediates target-directed microRNA degradation. *Science* (1979) 2020;370. <https://doi.org/10.1126/science.abc9359>.

Silva HVR, Rodriguez-Villamil P, Magalhães FF de, Nunes TGP, Freitas LA de, Ribeiro LR, et al. Seminal plasma and sperm proteome of ring-tailed coatis (*Nasua nasua*, Linnaeus, 1766). *Theriogenology* 2018;111:34–42. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.036>.

Singh R, Sengar G, Singh U, Deb R, Junghare V, Hazra S, et al. Functional proteomic analysis of crossbred (Holstein Friesian × Sahiwal) bull spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals* 2018;53:588–608. <https://doi.org/10.1111/rda.13146>.

Skerrett-Byrne DA, Anderson AL, Hulse L, Wass C, Dun MD, Bromfield EG, et al. Proteomic analysis of koala (*phascolarctos cinereus*) spermatozoa and prostatic bodies. *Proteomics* 2021;21. <https://doi.org/10.1002/pmic.202100067>.

Smyth SP, Nixon B, Anderson AL, Murray HC, Martin JH, MacDougall LA, et al. Elucidation of the protein composition of mouse seminal vesicle fluid. *Proteomics* 2022;22. <https://doi.org/10.1002/pmic.202100227>.

Souza F, Chirinéa V, Martins M, Lopes M. Osteopontin in Seminal Plasma and Sperm Membrane of Dogs. *Reproduction in Domestic Animals* 2009;44:283–6. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01447.x>.

Spinaci M, Volpe S, Bernardini C, De Ambrogi M, Tamanini C, Seren E, et al. Immunolocalization of heat shock protein 70 (Hsp 70) in boar spermatozoa and its role during fertilization. *Mol Reprod Dev* 2005;72:534–41. <https://doi.org/10.1002/mrd.20367>.

Springer M, Moco S. Resveratrol and Its Human Metabolites—Effects on Metabolic Health and Obesity. *Nutrients* 2019;11:143. <https://doi.org/10.3390/nu11010143>.

Tan Z, Gao L, Wang Yan, Yin H, Xi Y, Wu X, et al. PRSS contributes to cetuximab resistance in colorectal cancer. *Sci Adv* 2020;6. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax5576>.

The Human Protein Atlas. Coiled-Coil Domain Containing 175 n.d. The Human Protein Atlas (accessed February 6, 2024).

The UniProt Consortium. UniProt: A worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res* 2019;47:D506–5012. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1049>.

Tokuhiro K, Ikawa M, Benham AM, Okabe M. Protein disulfide isomerase homolog PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male fertility. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2012;109:3850–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117963109>.

Truebestein L, Leonard TA. Coiled-coils: The long and short of it. *BioEssays* 2016;38:903–16. <https://doi.org/10.1002/bies.201600062>.

Tschiedel B. A História do Diabetes. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia 2014.

Tsounapi P, Honda M, Dimitriadis F, Kawamoto B, Hikita K, Muraoka K, et al. Impact of antioxidants on seminal vesicles function and fertilizing potential in diabetic rats. *Asian J Androl* 2017;19:639. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.186871>.

Turunen T, Magris M, Malinen M, Kekäläinen J. Seminal-Plasma-Mediated Effects on Sperm Performance in Humans. *Cells* 2022;11:2147. <https://doi.org/10.3390/cells11142147>.

Ul Hassan I, Mamoon Rehman H, Liu Z, Zhou L, Kaleem Samma M, Wang C, et al. Genome-wide identification and spatiotemporal expression profiling of zinc finger SWIM domain-containing protein family genes. *Zool Res* 2023;44:663–74. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2022.418>.

Umar S, Ahmad M, Ahmad I, Zubair M, Umar Z, Qureshi AS, et al. Correlation of biochemical constituents of seminal plasma with semen quality in Teddy goat (*Capra hircus*) bucks. *Andrologia* 2018;50:e12940. <https://doi.org/10.1111/and.12940>.

Vaughan PS, van der Meijden CMJ, Aziz F, Harada H, Taniguchi T, van Wijnen AJ, et al. Cell Cycle Regulation of Histone H4 Gene Transcription Requires the Oncogenic Factor IRF-2. *Journal of Biological Chemistry* 1998;273:194–9. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.1.194>.

Verze P, Cai T, Lorenzetti S. The role of the prostate in male fertility, health and disease. *Nat Rev Urol* 2016;13:379–86. <https://doi.org/10.1038/nrurrol.2016.89>.

Wang L, Chen W, Zhao C, Huo R, Guo X-J, Lin M, et al. The role of ezrin-associated protein network in human sperm capacitation. *Asian J Androl* 2010;12:667–76. <https://doi.org/10.1038/aja.2010.79>.

Wang M, Liu X, Chang G, Chen Yidong, An G, Yan L, et al. Single-Cell RNA Sequencing Analysis Reveals Sequential Cell Fate Transition during Human Spermatogenesis. *Cell Stem Cell* 2018;23:599-614.e4. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.08.007>.

Wang P, Huo HL, Wang SY, Miao YW, Zhang YY, Zhang QL, et al. Cloning, sequence characterization, and expression patterns of members of the porcine TSSK family. *Genetics and Molecular Research* 2015;14:14908–19. <https://doi.org/10.4238/2015.October.18.56>.

Wang Y-B, Yang L, Deng Y-Q, Yan S-Y, Luo L-S, Chen P, et al. Causal relationship between obesity, lifestyle factors and risk of benign prostatic hyperplasia: a univariable and multivariable Mendelian randomization study. *J Transl Med* 2022;20:495. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03722-y>.

Wang Z, Tufts R, Haleem R, Cai X. Genes regulated by androgen in the rat ventral prostate. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1997;94:12999–3004. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.24.12999>.

Weaver EM, Zamora FJ, Pupilampu-Dove YA, Kiessu E, Hearne JL, Martin-Caraballo M. Regulation of T-type calcium channel expression by sodium butyrate in prostate cancer cells. *Eur J Pharmacol* 2015;749:20–31. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.12.021>.

Wells AD, Malkovsky M. Heat shock proteins, tumor immunogenicity and antigen presentation: an integrated view. *Immunol Today* 2000;21:129–32. [https://doi.org/10.1016/S0167-5699\(99\)01558-3](https://doi.org/10.1016/S0167-5699(99)01558-3).

Welter H, Herrmann C, Fröhlich T, Flenkenthaler F, Eubler K, Schorle H, et al. Filamin A Orchestrates Cytoskeletal Structure, Cell Migration and Stem Cell Characteristics in Human Seminoma TCam-2 Cells. *Cells* 2020;9:2563. <https://doi.org/10.3390/cells9122563>.

WHO. Diabetes 2023a. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (accessed August 15, 2023).

WHO. 1 in 6 people globally affected by infertility: WHO 2023b. <https://www.who.int/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility#:~:text=Large%20numbers%20of%20people%20are,care%20for%20those%20in%20need>. (accessed August 15, 2023).

WHO. Sexual and reproductive health. World Health Organization 2018. <https://www.who.int/reproductivehealth/%0Apublications/guidelines-treatment-infertility/en/> (accessed June 12, 2021).

Wijeyesakere SJ, Bedi SK, Huynh D, Raghavan M. The C-Terminal Acidic Region of Calreticulin Mediates Phosphatidylserine Binding and Apoptotic Cell Phagocytosis. *The Journal of Immunology* 2016;196:3896–909. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502122>.

Williams DB. Beyond lectins: the calnexin/calreticulin chaperone system of the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci* 2006;119:615–23. <https://doi.org/10.1242/jcs.02856>.

Winderickx J, Hemschoote K, De Clercq N, Van Dijck P, Peeters B, Rombauts W, et al. Tissue-Specific Expression and Androgen Regulation of Different Genes Encoding Rat Prostatic 22-Kilodalton Glycoproteins Homologous to Human and Rat Cystatin. *Molecular Endocrinology* 1990;4:657–67. <https://doi.org/10.1210/mend-4-4-657>.

Wisevoter. Most Obese Countries 2023a. <https://wisevoter.com/country-rankings/most-obese-countries/#map> (accessed August 15, 2023).

Wisevoter. Diabetes Rates by Country 2023b. <https://wisevoter.com/country-rankings/diabetes-rates-by-country/> (accessed August 15, 2023).

Wu C-T, Altuwaijri S, Ricke WA, Huang S-P, Yeh S, Zhang C, et al. Increased prostate cell proliferation and loss of cell differentiation in mice lacking prostate epithelial androgen receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007;104:12679–84. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704940104>.

Wu H, Liu Y, Li Y, Li K, Xu C, Gao Y, et al. DNALI1 deficiency causes male infertility with severe asthenozoospermia in humans and mice by disrupting the assembly of the flagellar inner dynein arms and fibrous sheath. *Cell Death Dis* 2023;14:127. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05653-y>.

Xia J, Wishart DS. Using MetaboAnalyst 3.0 for Comprehensive Metabolomics Data Analysis. *Curr Protoc Bioinformatics* 2016;55. <https://doi.org/10.1002/cpbi.11>.

Xiu-Yan Y, Gu YJ, An T, Liu JX, Pan YY, Mo FF, et al. Proteomics Analysis of Testis of Rats Fed a High-Fat Diet. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2018;47:378–89. <https://doi.org/10.1159/000489918>.

Xu X, Wang Yaohui, Chen J, Du X, Yao L, Xu J, et al. Mutation of Serine protease 1 Induces Male Sterility in *Bombyx mori*. *Front Physiol* 2022;13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.828859>.

Xue B, Wu S, Sharkey C, Tabatabaei S, Wu C-L, Tao Z, et al. Obesity-associated inflammation induces androgenic to estrogenic switch in the prostate gland. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2020;23:465–74. <https://doi.org/10.1038/s41391-020-0208-4>.

Yamaguchi A, Kaneko T, Inai T, Iida H. Molecular Cloning and Subcellular Localization of Tektin2-Binding Protein 1 (Ccdc 172) in Rat Spermatozoa. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 2014;62:286–97. <https://doi.org/10.1369/0022155413520607>.

Yan Z, Zhou Y, Yang Y, Zeng C, Li P, Tian H, et al. Zinc finger protein 384 enhances colorectal cancer metastasis by upregulating MMP2. *Oncol Rep* 2022;47:49. <https://doi.org/10.3892/or.2022.8260>.

Yannasithinon S, Iamsaard S. Alterations of morphology and phosphorylated protein expression in the seminal vesicles of diabetic mice. *Andrologia* 2019;51. <https://doi.org/10.1111/and.13406>.

Yean Wong RL, Wang Q, Treviño LS, Bosland MC, Chen J, Medvedovic M, et al. Identification of Secretoglobin *Scgb2a1* as a target for developmental reprogramming by BPA in the rat prostate. *Epigenetics* 2015;10:127–34. <https://doi.org/10.1080/15592294.2015.1009768>.

Yeung C. Studies on the origin of redox enzymes in seminal plasma and their relationship with results of in-vitro fertilization. *Mol Hum Reprod* 1998;4:835–9. <https://doi.org/10.1093/molehr/4.9.835>.

Yeung WSB, Lee K-F, Koistinen R, Koistinen H, Seppälä M, Chiu PCN. Effects of glycodepins on functional competence of spermatozoa. *J Reprod Immunol* 2009;83:26–30. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.04.012>.

Yu Z, Luo H, Fu W, Mattson MP. The Endoplasmic Reticulum Stress-Responsive Protein GRP78 Protects Neurons Against Excitotoxicity and Apoptosis: Suppression of Oxidative Stress and Stabilization of Calcium Homeostasis. *Exp Neurol* 1999;155:302–14. <https://doi.org/10.1006/exnr.1998.7002>.

Zannoni A, Bernardini C, Zaniboni A, Ferlizza E, Ventrella D, Bacci ML, et al. Relative abundance of heat shock proteins and clusterin transcripts in spermatozoa collected from boar routinely utilised in an artificial insemination centre: preliminary results. *Vet Res Commun* 2017;41:233–9. <https://doi.org/10.1007/s11259-017-9689-6>.

Zhang C, Kho Y-S, Wang Z, Chiang YT, Ng GKH, Shaw P-C, et al. Transmembrane and Coiled-Coil Domain Family 1 Is a Novel Protein of the Endoplasmic Reticulum. *PLoS One* 2014;9:e85206. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085206>.

Zhang L, Qin Y, Gong X, Peng R, Cai C, Zheng Y, et al. A promoter variant in ZNF804A decreasing its expression increases the risk of autism spectrum disorder in the Han Chinese population. *Transl Psychiatry* 2019;9:31. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0369-x>.

Zhang X, Peng J, Wu M, Sun A, Wu X, Zheng J, et al. Broad phosphorylation mediated by testis-specific serine/threonine kinases contributes to spermiogenesis and male fertility. *Nat Commun* 2023;14:2629. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38357-0>.

Zhang Y, Qi J, Zhao J, Li M, Zhang Yulin, Hu H, et al. Effect of Dietetic Obesity on Testicular Transcriptome in Cynomolgus Monkeys. *Genes (Basel)* 2023;14:557. <https://doi.org/10.3390/genes14030557>.

Zhang YL, Zhou ZX, Zhang YD, Parker MG. Expression of androgen receptors and prostatic steroid-binding protein during development of the rat ventral prostate. *Journal of Endocrinology* 1988;117:361-NP. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1170361>.

Zhao J, Dong X, Hu X, Long Z, Wang L, Liu Q, et al. Zinc levels in seminal plasma and their correlation with male infertility: A systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2016;6:22386. <https://doi.org/10.1038/srep22386>.

Zini A, Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase- and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa. *Int J Androl* 1993;16:183–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1993.tb01177.x>.

CAPÍTULO 2

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n, Bairro: Unesp Campus de Botucatu, 18618-681 - Botucatu, SP, Brazil, Telephone: +55(14)3880-2237, Email: fabiana.f.souza@unesp.br (FF Souza)

26 RESUMO

27 A obesidade e o diabetes são comorbidades com alta prevalência mundial e afetam a saúde
28 reprodutiva de homens jovens. O objetivo deste estudo consiste em compreender os
29 efeitos da obesidade e diabetes sobre as glândulas sexuais acessórias (próstata e fluido da
30 vesícula seminal), a fim de identificar proteínas diferencialmente abundantes e propor
31 biomarcadores da infertilidade masculina nestas condições. Para isso, foram utilizados 30
32 ratos Wistar com cerca de 50 dias de idade, distribuídos em três grupos: controle, obesos
33 (induzidos com dieta de cafeteria e 5% de sacarose na água) e diabéticos (induzidos com
34 estreptozotocina). As doenças foram validadas e aos 285 dias, os ratos foram eutanasiados
35 e as amostras de tecido prostático e fluido da vesícula seminal foram colhidas. A digestão
36 trípica em gel das amostras foi conduzida e a proteômica foi realizada com abordagem
37 *shotgun*. Os dados foram submetidos a análise multivariada (*principal component*
38 *analysis*) e a univariada (ANOVA e teste de Fisher LSD). Curvas ROC foram construídas
39 para grupos tratados (diabéticos e obesos) *versus* controle, considerando $AUC > 0,80$ e P
40 $< 0,05$. Na PCA houve uma separação do grupo diabético em ambos os tipos de amostra.
41 Na próstata foram identificadas 23 proteínas diferencialmente abundantes, das quais 19 e
42 4 foram alteradas em diabéticos e obesos, respectivamente. Já no fluido da vesícula
43 seminal foram identificadas 8 proteínas mais abundantes, das quais 4 estavam alteradas
44 no obeso e diabético, 1 no diabético, e 3 no obeso, quando comparados ao controle. As
45 proteínas identificadas foram relacionadas a atividade androgênica, motilidade
46 espermática, integridade celular, proteção ao estresse oxidativo e fertilização.

47
48 **Palavras chaves:** síndrome metabólica; próstata; vesícula seminal, fertilidade, proteína

49

50 INTRODUÇÃO

51 A obesidade é um crescente problema de saúde pública, a qual apresentou rápida mudança
52 no peso médio da população ao longo dos anos ¹. Esta condição está associada a
53 comorbidades graves, aumentando o risco de acidentes vasculares e diabetes *mellitus* ^{2,3}.
54 O termo diabetes *mellitus* descreve um distúrbio metabólico com múltiplas causas que
55 afeta o metabolismo de proteínas, gorduras e carboidratos devido a problemas na ação ou
56 secreção da insulina ^{4,5}. Assim como a obesidade, essa doença tem uma alta incidência
57 global e afeta jovens em idade reprodutiva ^{1,6,7}. A infertilidade masculina, a qual atinge
58 um total de 55%, refere-se à dificuldade de gerar descendentes normais, devido a
59 incapacidade da cópula ou a habilidade dos espermatozoides para fecundar o oócito ¹².

60 Embora o trato reprodutor masculino seja formado por 3 glândulas sexuais
61 acessórias, a próstata e a vesícula seminal são as principais que contribuem para a
62 produção do plasma seminal, liberando fluídos que contêm moléculas que se agregam aos
63 espermatozoides. Essas glândulas compartilham funções importantes para a manutenção
64 das células ¹³, essenciais na disponibilização de nutrientes, como frutose, ácido ascórbico
65 e zinco (viabilidade espermática), proteção contra pH ácido da vagina (alcalinização) e o
66 sistema imunológico feminino (antibacteriano), formação do coágulo seminal (em
67 algumas espécies), lubrificação do trajeto até o útero, ativação dos espermatozoides,
68 capacitação e reação do acrossomo ¹⁴⁻¹⁸.

69 Está bem estabelecido que as doenças metabólicas têm um impacto significativo
70 nos órgãos reprodutivos masculinos, afetando suas funções de diversas maneiras. Estudos
71 translacionais que utilizaram a indução da obesidade e diabetes como modelos
72 experimentais relataram várias alterações nas glândulas anexas. Essas mudanças incluem
73 atrofia, alterações na histologia, comprometimento da capacitação e fertilização, aumento
74 estresse oxidativo, ¹⁹⁻²⁴ e redução nos níveis séricos de gonadotrofinas (LH e FSH) e
75 testosterona ²⁵.

76 Baseado nesses relatos, esse estudo visa investigar os efeitos da obesidade e
77 diabetes na saúde reprodutiva utilizando ratos como modelo experimental, com foco no
78 sistema reprodutor masculino. Utilizando-se uma abordagem proteômica, o estudo busca
79 identificar biomarcadores de infertilidade associados à essas condições. Este é o primeiro
80 estudo que utiliza proteômica da próstata e vesícula seminal de obesos e diabéticos,
81 buscando compreender a interação entre as doenças, que podem coexistir, notadamente
82 os efeitos adversos decorrentes da interação entre os níveis de glicose e insulina, é
83 possível discernir os impactos negativos dessas condições na função reprodutiva

84 masculina.

85

86 **SEÇÃO EXPERIMENTAL**

87 **Preceitos éticos**

88 O estudo foi conduzido de acordo com os preceitos éticos preconizados pelo Conselho
89 Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pelo Comitê de
90 Ética no Uso de Animais (n 0212/2022).

91

92 **Design experimental**

93 Esse estudo é uma continuação da metodologia publicada por Carvalho et al.²⁶. Foram
94 utilizados 30 ratos *Rattus norvegicus* (Wistar) com ~50 dias de idade, separados em 3
95 grupos: controle (n=10), diabéticos (n=10) e (obesos (n=10). O grupo obeso recebeu dieta
96 de cafeteria e água *ad libitum* com 5% de sacarose, por 38 semanas, para indução da
97 obesidade. O diabetes, foi induzido com aplicação de 35 mg/kg de estreptozotocina, dose
98 única, e foram considerados diabéticos animais com perda de peso corporal e níveis de
99 glicemia maiores ou iguais a 200 mg/dL. Ambas as doenças foram validadas. Aos 285
100 dias os ratos foram eutanasiados e a próstata e vesícula seminal foram colhidas.

101

102 **Proteômica**

103 As próstatas ventrais foram dissecadas e pesadas, e para cada 0,2 g de tecido foram
104 adicionados 1 mL de solução tampão RIPA modificado²⁷, contendo inibidores de protease
105 (150 mmol NaCl, 1% Triton X- 100, 1% desoxicolato de sódio, 0,1% dodecil sulfato de
106 sódio, 0,8 mmol EDTA, 1,0 µg/mL aprotinina, 1,0 µg/mL leupeptina e 35,0 µg/mL PMSF
107 em 50 mmol Tris-HCl pH 7,2). As vesículas seminais foram dissecadas e o fluido foi
108 colhido. Ambas as amostras foram sonicadas em banho de gelo^{28,29} e o sobrenadante foi
109 retirado após centrifugação a 10,000 x g por 30 minuto a 4 °C e armazenado a -80 °C.

110 As proteínas foram precipitadas com metanol/clorofórmio (1 clorofórmio: 4
111 metanol: 4 amostra) de acordo com Jakobs et al.³⁰. Ao final, o precipitado foi eluído em
112 50 mmol Tris-HCl pH 7,2. A amostra foi homogeneizada e armazenada a -20 °C.

113 A concentração de proteína total, do tecido prostático e fluido da vesícula seminal,
114 foi mensurada utilizando absorvância A280 em nano-espectrômetro (NanoDrop™ 2000,
115 Thermo Fisher Scientific™, São Paulo, São Paulo, Brasil).

116 Uma alíquota de 50 µg de proteína foi preparada para eletroforese em gel de
117 poliacrilamida 12%. Após a entrada da amostra no gel de separação, a corrida foi

118 interrompida e o gel foi corado com Coomassie G-250^{31,32}. Os fragmentos corados foram
119 excisados e a digestão triptica dos peptídeos foi conduzida.

120 A digestão foi realizada usando o método descrito por Shevchenko et al.³³ com
121 modificações. A descoloração foi realizada com 50% de metanol e 2,5% de ácido acético
122 em água purificada. Os fragmentos foram desidratados com 100% de acetonitrila. A
123 redução das pontes dissulfeto foi realizada com ditioneitol (DTT) (Bio-Rad Lagoa Santa,
124 São Paulo, Brasil) e a alquilação com iodoacetamida (Bio-Rad Santo Amaro, Minas
125 Gerais, Brasil). As amostras foram digeridas com tripsina (20 ng/μL) em uma proporção
126 de 1:50 (tripsina/substrato), *overnight*. A extração dos peptídeos foi realizada com ácido
127 fórmico a 5%. As amostras foram concentradas (SPD1010 Integrated SpeedVac Systems,
128 Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, Estados Unidos) e armazenadas
129 a -20 °C até a análise por espectrometria de massa.

130 Para a espectrometria de massa, as amostras foram descongeladas, diluídas com
131 ácido fórmico a 0,1% para 0,7 μg de proteína/μL, homogeneizadas e centrifugadas a 1100
132 g por 5 min. Em seguida, 15 μL do sobrenadante foi depositado em tubos específicos para
133 análise por espectrometria de massas (vidro transparente 12 × 32 mm 2 frascos de
134 recuperação total com gargalo rosqueado e tampa (Waters Corporation, Milford,
135 Massachusetts, Estados Unidos).

136 Para análise de proteínas usando espectrometria de massas, uma alíquota de 4,5
137 μL resultante da digestão dos peptídeos foi separada em uma coluna C18 (100 μm × 100
138 mm) RP-nano *ultra performance liquid chromatography* (UPLC) (Waters
139 nanoACQUITY UPLC, Waters Corporation, Milford, Massachusetts, Estados Unidos)
140 acoplada a um espectrômetro de massa quadrupolo *time-of-flight* (Q-TOF) (Micromass
141 Q-ToF PREMIER mass spectrometer, Waters Corporation, Milford, Massachusetts,
142 Estados Unidos) com uma fonte de *nanoeletrospray* a uma taxa de fluxo de 0,600
143 μL/minutos. Um gradiente de acetonitrila (2-90%) em ácido fórmico a 0,1% foi mantido
144 por 45 minutos. A voltagem do nanoeletrospray foi mantida em 3,5 kV, uma voltagem do
145 cone de 30 V e uma temperatura da fonte de 100 μC. O instrumento foi operado no modo
146 *top three*, no qual o espectro de massas (MS) foi adquirido, seguido da aquisição dos três
147 picos mais intensos detectados na fragmentação MS/MS.

148 Os parâmetros de pesquisa dos espectros incluíram tripsina como protease, com
149 um máximo de 1 perda de clivagem permitida; carbamidometilação da cisteína como
150 modificação fixa e oxidação da metionina como modificação variável; e uma tolerância
151 de 1 Da para ambos os precursores de íons (MS) e fragmentos (MS/MS) e uma massa

152 molecular monoisotópica.

153 Os espectros foram adquiridos usando o software MassLynx v.4.1 (Waters
154 Corporation, Milford, Massachusetts, Estados Unidos), e os arquivos de dados brutos
155 foram convertidos em um formato de lista de picos (.mgf) sem adicionar as varreduras e
156 pesquisados no banco de dados UniprotSProt 10116 (<http://www.uniprot.org/>) para a
157 taxonomia *Rattus norvegicus* usando a ferramenta Mascot versão 2.3.02 e Mascot
158 Distiller MDRO versão 2.4.0.0 (Matrix Science Inc., Boston, MA, USA).

159 Os resultados foram submetidos ao Protein Pilot Software 4.0 (AB Sciex,
160 Framingham, Massachusetts, Estados Unidos) para análise do conjunto de dados, validar
161 os peptídeos MS/MS e identificar as proteínas. Após a identificação das proteínas, os
162 dados foram inseridos no UniProtKB (www.uniprot.org.br)³⁴ e David
163 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)³⁵ para obter as anotações da ontologia gênica (GO)
164 usando as categorias função molecular, processo biológico e componente celular (**Tabela**
165 **S2 e Figura S2**). A quantificação relativa de cada proteína na mistura foi determinada
166 calculando o índice de abundância de proteína exponencialmente modificada (emPAI)
167 usando o software Mascot Distiller.

168

169 **Análise estatística**

170 Para normalização dos dados, foram consideradas para a análise estatística as proteínas
171 que estavam presentes em pelo menos 50% das amostras de cada grupo. Para minimizar
172 os efeitos dos *outliers*, o valor do emPAI de cada amostra foi dividido pela somatória do
173 emPAI de todas as amostras nos grupos. O valor resultante foi utilizado para análise
174 estatística.

175 Os dados foram submetidos a análise de agrupamento não-hierárquica usando o
176 software MetaboAnalyst 6.0³⁶, para confirmar as divisões dos grupos baseado na
177 abundância de proteínas. A análise multivariada (*principal component analysis* - PCA)
178 foi utilizada para descrever a variação das amostras na matriz de pontuação. O *heatmap*
179 foi construído para a comparação visual das proteínas nos grupos. A análise univariada
180 (ANOVA) foi usada para determinar a diferença entre os grupos, e o teste de Fisher LSD
181 para as comparações múltiplas. Os valores foram considerados significativos quando
182 *false discovery rate* (FDR) foi $< 0,05$. A curva ROC do tecido prostático foi construída
183 separadamente entre grupos tratados (diabéticos ou obesos) *versus* grupo controle, foram
184 considerados valores significativos para AUC $> 0,80$ e $P < 0,05$ (**Tabela S1**).

185

RESULTADOS

Análise comparativa dos 3 grupos do tecido prostático e fluido da vesícula

Na PCA do tecido prostático e do fluido da vesícula seminal observou-se um distanciamento do grupo diabético, no entanto, o grupo obeso estava sobreposto ao grupo controle. A soma dos componentes principais (eixos X e Y) 1 e 2 não foi superior a 50% (**Figura 1**).

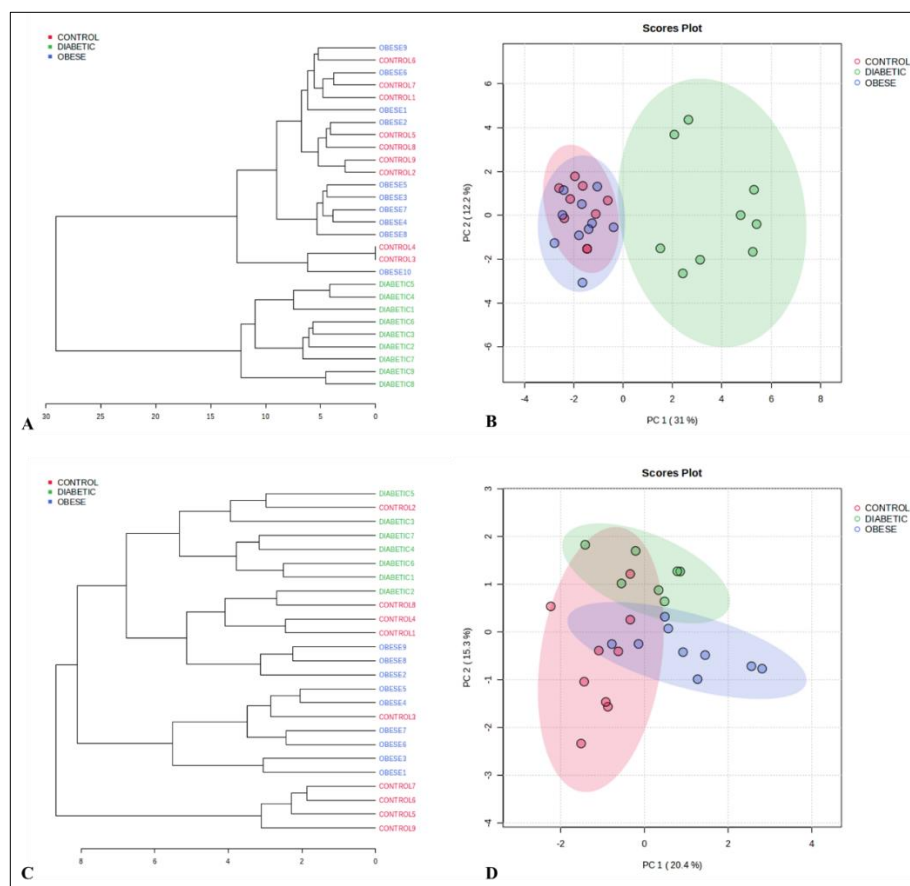


Figura 1. Proteínas do tecido prostático, (A) Dendrograma dos emPAIs de proteínas dos grupos controle, diabético e obeso e (B) análise dos componentes principais (PC1 + PC2 = 43,2). Proteínas do fluido da vesícula seminal, (C) Dendrograma dos emPAIs de proteínas dos grupos controle, diabético e obeso e (D) análise dos componentes principais (PC1 + PC2 = 35,7).

Na espectrometria de massa, 252 proteínas foram identificadas no tecido prostático e 251 proteínas no fluido da vesícula seminal (**Figura 2**). As Tabelas S2 - S5 descrevem os resultados obtidos para cada grupo, incluindo a função molecular, processo biológico e componente celular de cada proteína.

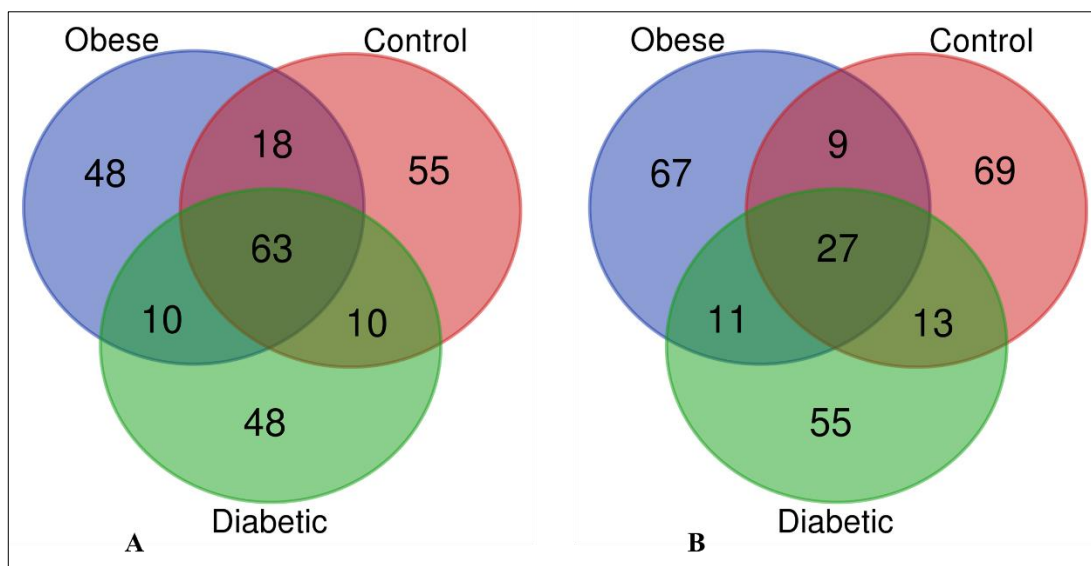


Figura 2. Diagrama de *Venn* das proteínas encontradas nos grupos controle, diabético e obeso do tecido prostático (A) e fluido da vesícula seminal (B). <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>.

O *heatmap* do tecido prostático e do fluido da vesícula seminal revelou claramente as disparidades entre os grupos, destacando-se as diferenças mais significativas ao comparar os grupos controle e diabético no tecido prostático. No entanto, em relação à vesícula seminal, observou-se um padrão mais heterogêneo no mapa (**Figura 3**).

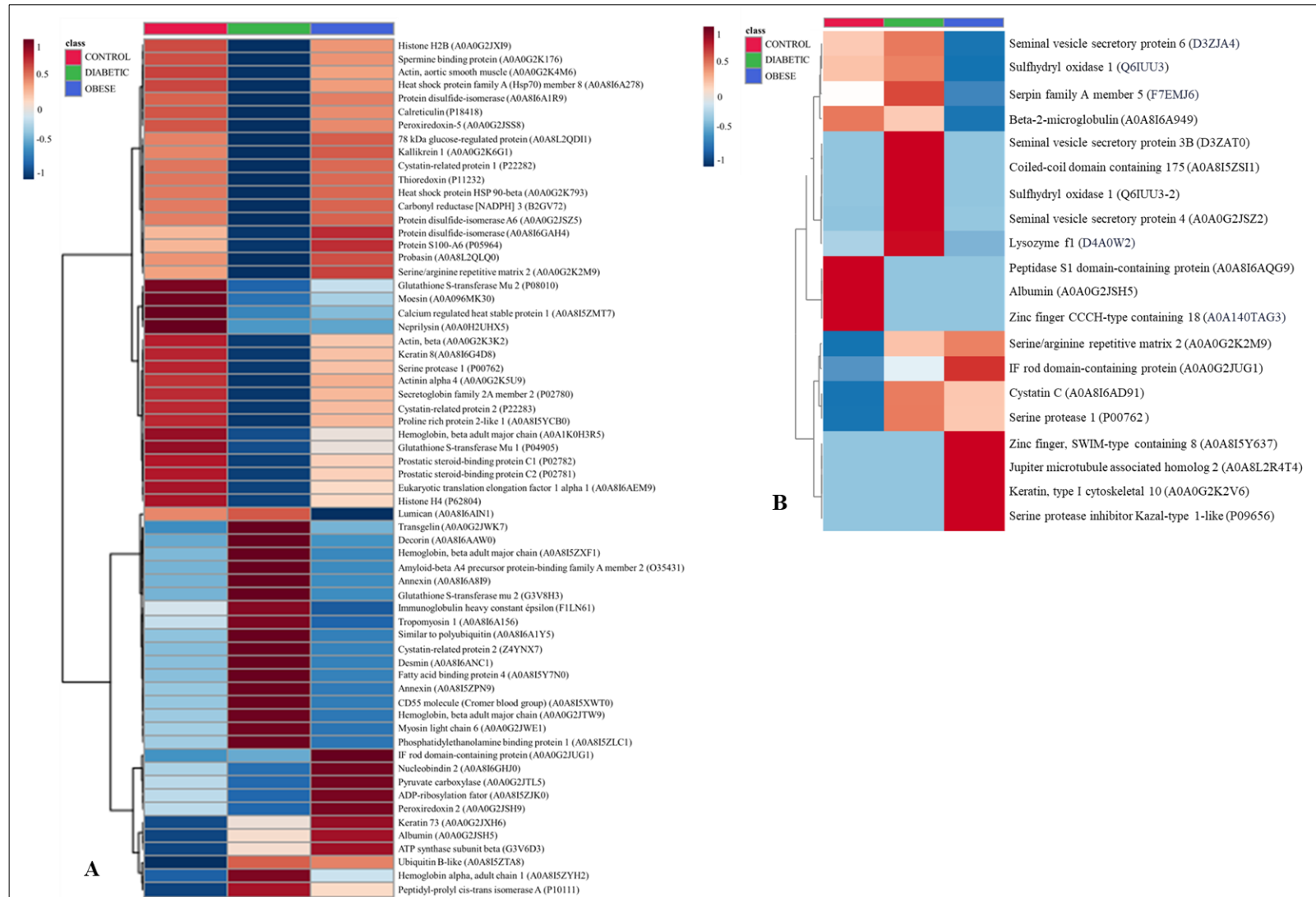


Figura 3. Heatmap do tecido prostático (A) e fluido da vesícula seminal (B), demonstrando a abundância relativa de proteínas em cada grupo, sendo vermelha e azul, a representação de uma maior e menor abundância respectivamente.

Tabela 1.

Abundância diferencial das proteínas do tecido prostático no grupo controle *versus* diabético ou obeso (ANOVA - Fisher's LSD test, FDR < 0.05).

ID	Proteínas	Grupos		ANOVA
A0A0G2JSS8	<i>Peroxiredoxin-5</i>	Controle	Diabético	↓
A0A8L2QDI1	<i>78 kDa glucose-regulated protein</i>	Controle	Diabético	↓
A0A8I5ZMT7	<i>Calcium regulated heat stable protein 1</i>	Controle	Diabético	↓
P18418	<i>Calreticulin</i>	Controle	Diabético	↓
B2GV72	<i>Carbonyl reductase [NADPH] 3</i>	Controle	Diabético	↓
P22283	<i>Cystatin-related protein 2</i>	Controle	Diabético	↓
A0A8I6AAW0	<i>Decorin</i>	Controle	Diabético	↑
A0A8I6AEM9	<i>Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1</i>	Controle	Diabético	↓
A0A8I6A278	<i>Heat shock protein family A (Hsp70) member 8</i>	Controle	Diabético	↓
A0A0G2K793	<i>Heat shock protein HSP 90-beta</i>	Controle	Diabético	↓
P62804	<i>Histone H4</i>	Controle	Diabético	↓
A0A096MK30	<i>Moesin</i>	Controle	Diabético	↓
A0A8L2QLQ0	<i>Probasin</i>	Controle	Diabético	↓
A0A8I5YCB0	<i>Proline rich protein 2-like 1</i>	Controle	Diabético	↓
P02781	<i>Prostatic steroid-binding protein C2</i>	Controle	Diabético	↓
A0A8I6A1R9	<i>Protein disulfide-isomerase</i>	Controle	Diabético	↓
P02780	<i>Secretoglobin family 2A member 2</i>	Controle	Diabético	↓
P00762	<i>Serine protease 1</i>	Controle	Diabético	↓
P11232	<i>Thioredoxin</i>	Controle	Diabético	↓
A0A0G2JXH6	<i>Keratin 73</i>	Controle	Obeso	↑
A0A8I6AIN1	<i>Lumican</i>	Controle	Obeso	↓
A0A8I5ZMT7	<i>Calcium regulated heat stable protein 1</i>	Controle	Obeso	↓
A0A8I5YCB0	<i>Proline rich protein 2-like 1</i>	Controle	Obeso	↓

Os resultados da análise univariada (ANOVA) do fluido da vesícula seminal, indicaram 8 proteínas com abundância diferente entre os grupos, quando comparados ao controle (FDR < 0,05, **Figura 4**). As proteínas *albumin* (A0A0G2JSH5), *peptidase S1 domain-containing protein* (A0A8I6AQG9), *zinc finger CCCH-type containing 18* (A0A140TAG3), foram menos abundantes, enquanto a *serine protease 1* (P00762) foi mais abundante, nos obesos e diabéticos em relação ao grupo controle. Já as proteínas *keratin, type I cytoskeletal 10* (A0A0G2K2V6), *zinc finger, SWIM-type containing 8* (A0A8I5Y637) e *serine protease inhibitor Kazal-type 1-like* (P09656) foram mais abundantes no obeso, enquanto a *coiled-coil domain containing 175* (A0A8I5ZSI1) foi mais abundante no diabético quando comparados ao controle.

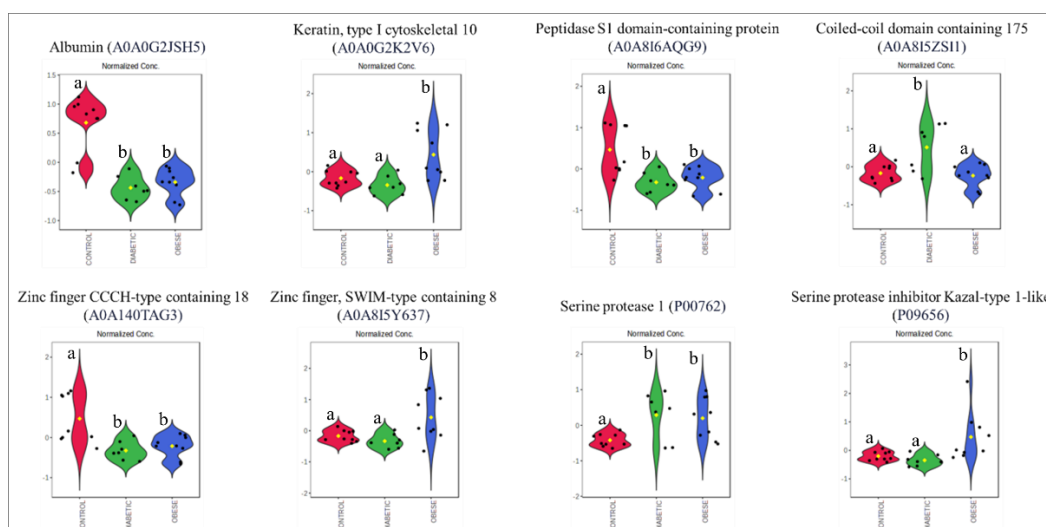


Figura 4. Abundância diferencial de proteínas do fluido da vesícula seminal no grupo controle, diabético e obeso (ANOVA - Fisher's LSD test, FDR < 0.05).

A matriz de proteínas foi submetida a análise de biomarcadores (curva ROC) do tecido prostático e fluido da vesícula seminal, comparados individualmente ao grupo controle (AUC > 0,80 e $P < 0,05$). No tecido prostático, foram identificadas 23 proteínas, sendo 19 no grupo diabético (**Figura 5**) e 4 no grupo obeso (**Figura 6**). Já na vesícula seminal, foram encontradas 4 proteínas, sendo 3 no grupo diabético (**Figura 7**) e 1 no grupo obeso (**Figura 8**).

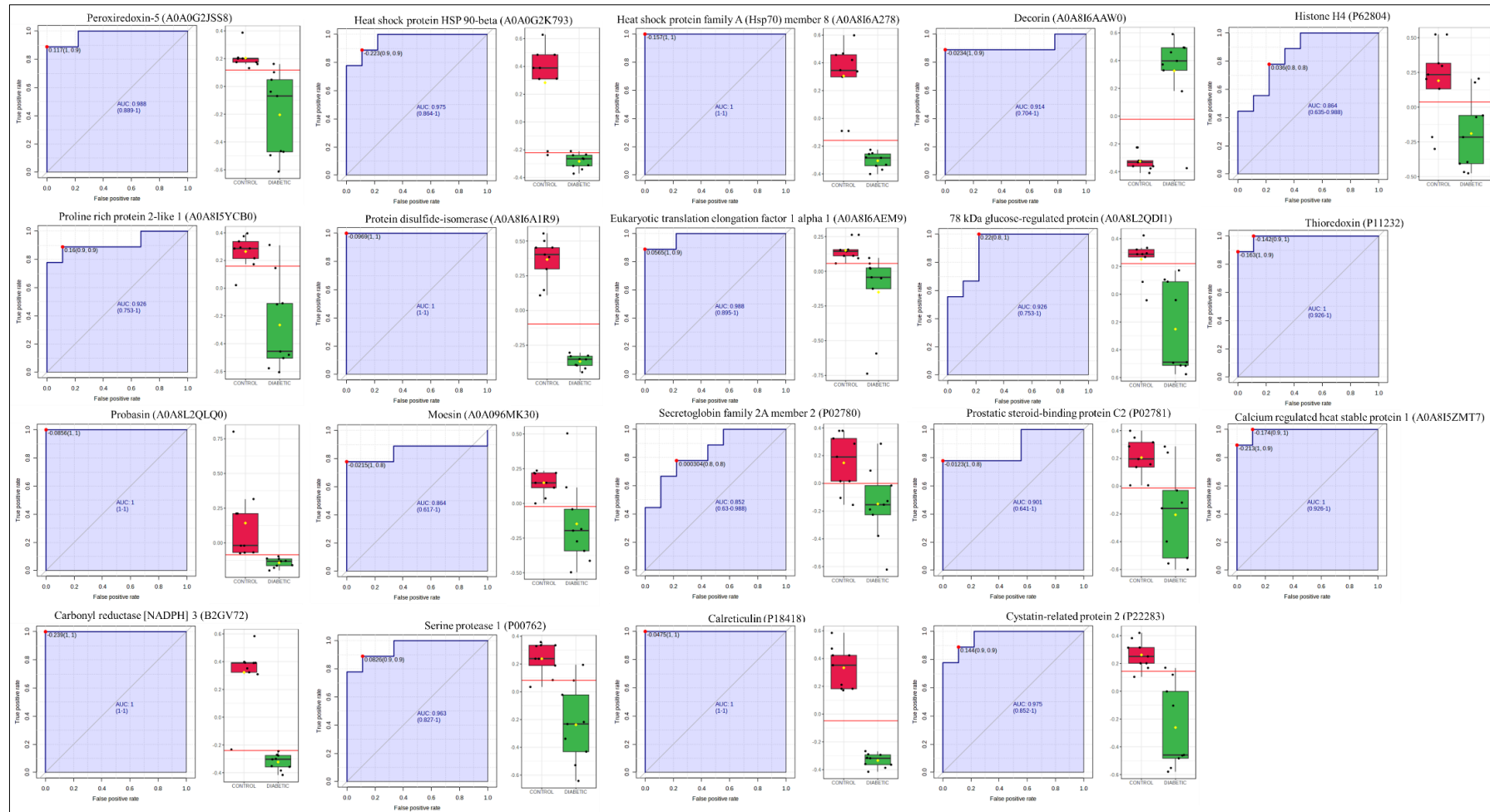


Figura 5. Valores AUC (> 0,80) encontrados para 19 proteínas do tecido prostático de ratos do grupo diabético *versus* controle.

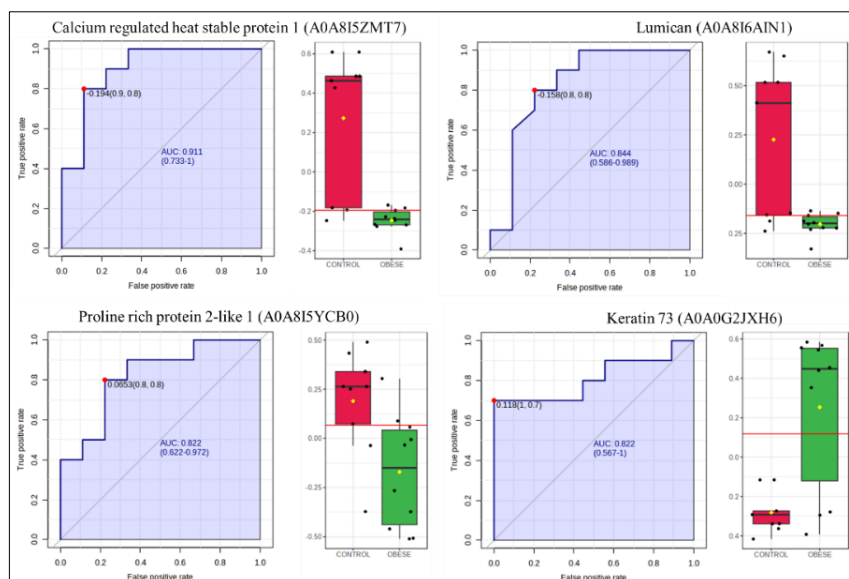


Figura 6. Valores AUC (> 0,80) encontrados para 4 proteínas do tecido prostático de ratos do grupo obeso *versus* controle.

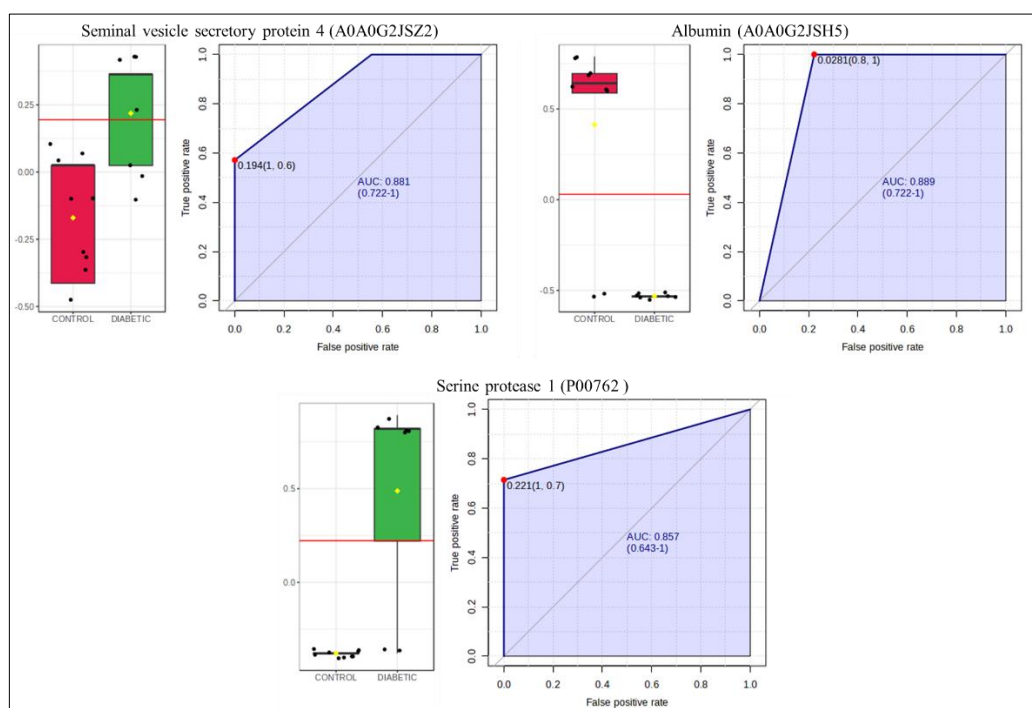


Figura 7. Valores AUC (> 0,80) encontrados para 3 proteínas no fluido da vesícula seminal de ratos do grupo diabético *versus* controle.

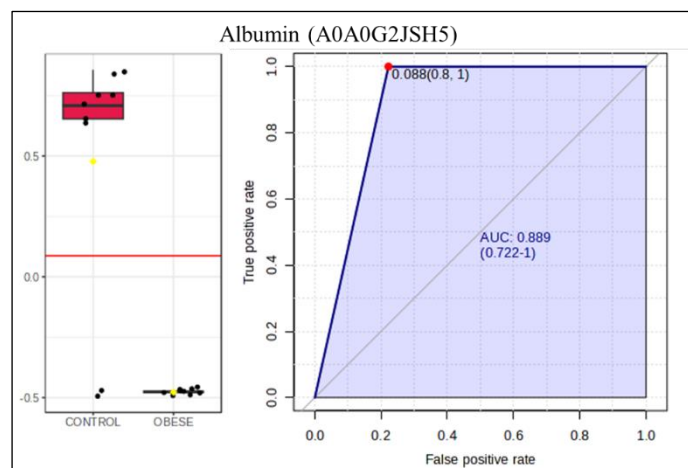


Figura 8. Valores AUC ($> 0,80$) encontrados para 1 proteínas do fluido da vesícula seminal de ratos do grupo obeso *versus* controle.

DISCUSSÃO

Os órgãos sexuais acessórios masculinos são amplamente influenciados pelos hormônios andrógenos, sendo essenciais para o crescimento, manutenção e função secretora adequada desses órgãos ³⁷. Esses resultados destacam a importância da compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos nos tecidos reprodutivos do diabetes e da obesidade ³⁸.

A proteômica identificou a formação de 3 *clusters*, considerando os resultados quantificação das proteínas no tecido prostático e do fluido da vesícula seminal dos grupos controle, obeso e diabético. Contudo, a PCA do tecido prostático e do fluido da vesícula seminal apresentou valor inferior a 50% para a soma de PC1 + PC2. Apesar disso, na PCA e dendrograma, o grupo diabético se encontrou isolado do grupo controle e obeso, demonstrando que existe uma maior diferença na abundância de proteínas. Já no fluido da vesícula seminal houve uma sobreposição dos 3 grupos, embora o controle tenha sido um pouco mais isolado. Resultados similares foram observados no *heatmap*, o qual indica que a obesidade tem menor impacto sobre as glândulas sexuais acessórias, quando comparado aos efeitos do diabetes. Já no fluido da vesícula seminal, as funções estruturais foram mantidas nos dois grupos, embora nos obesos houve também a manutenção das funções metabólicas.

Tecido prostático

Foram identificadas 5 proteínas específicas da próstata, *cystatin-related protein 2* (CRP2), presente no citoplasma e no espaço extracelular ³⁹; *prostatic steroid-binding protein C2 (PSPC2)*, encontrada apenas no espaço extracelular ⁴⁰; *proline rich protein 2-like 1* (Prp211), localizada na membrana plasmática ⁴¹; *probasin* (Pbsn), presente na região

extracelular ⁴² e *secretoglobin family 2A member 2* (Scgb2a2) no espaço extracelular ⁴³. A expressão dessas proteínas é regulada pela ação dos andrógenos, desempenhando um papel tanto no crescimento quanto na regressão do tecido prostático ³⁹⁻⁴⁵.

Estudos em animais que foram modificados geneticamente para silenciamento de genes específicos relacionados aos órgãos reprodutivos masculinos, com foco na família de proteínas cistatinas (CRP2), resultaram em esterilidade ou defeitos graves de fertilidade, como a migração dos espermatozoides através da tuba uterina ⁴⁶. Assim como a imunização de animais contra a proteína de ligação a esteroides da próstata, a PSPC2, desencadeou um processo inflamatório local, que foi associada à interação entre autoimunidade à próstata, capacidade antioxidante e qualidade do sêmen, destacando a importância da funcionalidade da próstata na fertilidade masculina ⁴⁷.

A Prp211 foi encontrada na secreção intraluminal da glândula, e possui características bioquímicas únicas para regulação por androgênios ⁴¹. Camundongos com ausência de receptores de andrógeno na próstata madura, apresentaram alterações na morfologia e função, modificando os níveis de expressão de marcadores específicos, como a Pbsn, teve sua diminuição associado a um aumento de proliferação e apoptose das células epiteliais prostáticas, assim como a Scgb2a2, importantes para homeostase da glândula ^{48,49}.

As CRP2, PSPC2, Prp211, Pbsn e a Scgb2a2, foram encontradas significativamente diminuídas na próstata de ratos diabéticos quando comparados ao controle, e somente a Prp211 estava diminuída também na próstata dos animais obesos. Estes resultados indicam que a manutenção das funções das glândulas sexuais acessórias é comprometida de forma mais intensa no diabetes, porém há também uma alteração nos obesos.

Sete proteínas com função de síntese de outras proteínas foram encontradas com abundância diferencial no tecido prostático: 78 kDa *glucose-regulated protein* (GRP78), *calreticulin* (CRT), *heat shock protein family A (Hsp70) member 8* (HSPA8), *heat shock protein HSP 90-beta* (HSP90-beta), *histone H4* (H4), *protein disulfide-isomerase* (P4hb) e a *serine protease 1* (PRSS1).

A GRP78 e CRT atuam na resposta ao estresse que ocorre no retículo endoplasmático (RE) das células ⁵⁰, organela celular fundamental para a síntese de proteínas relacionadas também a reprodução e fertilidade (Kim et al., 2013). Essa resposta é marcada pelo acúmulo de proteínas *misfolded*, desequilíbrio na homeostase do cálcio e escassez de glicose ⁵²⁻⁵⁴. Essas proteínas mantêm a integridade celular, assegurando a formação e a funcionalidade adequada das proteínas, prevenindo apoptose ^{55,56}. A disfunção da GRP78 e CRT está associada a condições como o diabetes ⁵⁷⁻⁶⁰.

As proteínas de choque térmico, HSPA8 e a HSP90-beta, são encontradas no citoplasma e no retículo endoplasmático ⁶¹. No espaço intracelular, estão associadas ao *folding* e importação de proteínas, endocitose para organelas celulares e protegem contra o estresse oxidativo ⁶². No espaço extracelular têm implicações na viabilidade celular e na regulação da apoptose ^{63,64}. A adição de HSPA8 ao meio de criopreservação do sêmen de ursos, levou a proteção da integridade da membrana celular, redução de danos no acrossomo e melhora na motilidade dos espermatozoides ⁶⁵, e esses mesmos resultados foram observados em carneiro ⁶⁶. Em coalas, a HSPA8 foi encontrada em maior abundância em corpos prostáticos, e foi associado a uma maior longevidade do espermatozoide pós-ejaculação ⁶⁷. A HSPA8 e Hsp90 foram associadas a motilidade dos espermatozoides suínos, sendo prejudicada pelo seu declínio ^{68,69}, bem como na interação espermatozoide-oócito, importante para fertilidade ^{70,71} em búfalos ⁷². Em homens o aumento na expressão da HSPA8, foi associado ao mecanismo de apoptose de espermatozoides inférteis ⁷³.

As histonas são proteínas localizadas no núcleo das células, importantes na organização e compactação do DNA. A *histona H4* (H4) é uma das cinco classes principais de histonas, e sua função está relacionada à formação da estrutura do nucleossoma, que é a unidade fundamental da cromatina ⁷⁴. Portanto, a H4 modula os processos celulares essenciais, como replicação, transcrição e reparo do DNA, participando da regulação da expressão gênica ⁷⁵. Essas proteínas foram descritas como novos indicadores epigenéticos para a avaliação da qualidade do espermatozoide pela análise dos padrões de modificações pós-traducionais de histonas e dos RNAs circulares, com o objetivo de diagnosticar a infertilidade masculina ⁷⁶. Modificações epigenéticas nas histonas do tipo H4 influencia a atividade dos receptores de andrógeno na próstata (Mahajan et al., 2017).

A P4hb é uma proteína encontrada no lúmen do retículo endoplasmático, atua na formação e rearranjo das ligações das pontes de dissulfeto. Essa função é essencial para o *folding* correto das proteínas ⁷⁸ e é associada a processos biológicos como a capacitação espermática e fertilização humana ⁷⁹. Já a PRSS1 está localizada no espaço extracelular, recebe esse nome pela serina em seu centro ativo, onde ocorre a clivagem de ligações peptídicas, participando do processamento de proteínas ⁸⁰. A PRSS1 foi encontrada menos abundante no plasma seminal de touros com sêmen de baixa qualidade ⁸¹. Também está associada ao bloqueio da polispermia, atuando na reação na zona pelúcida ⁸².

Todas as 7 proteínas relacionadas a síntese de proteínas como função principal, foram encontradas diminuídas na próstata de ratos diabéticos quando comparados ao controle, o que está diretamente relacionado com a escassez de glicose (estresse) nas células, cuja

resposta em indivíduos normais é a atuação de proteínas moduladoras do *folding*. Em situações de estresse e na ausência destas proteínas que modulam o *folding* pode haver a formação de complexos de proteínas que não são capazes de exercer as funções do tecido.

Quanto a função antioxidante, foram identificadas 3 proteínas em comum. A *carbonyl reductase [NADPH] 3* (Cbr3), *thioredoxin* (Txn) e *peroxiredoxin-5* (PRDX5).

A Cbr3 é uma enzima pertencente à família das carbonil redutases, localizada no citosol. Essas enzimas exercem função na redução de compostos aldeídos e cetonas, convertendo-os em álcoois. Esse processo ocorre com o auxílio do cofator NADPH, para a transferência de elétrons em muitas reações metabólicas⁸³. A Txn atua na manutenção do estado redox das proteínas, neutralizando as espécies reativas de oxigênio e atuando como um mecanismo de proteção celular contra danos oxidativos^{84,85}. A PRDX5 é uma enzima, que reage a altos níveis de peróxido de hidrogênio⁸⁶⁻⁸⁸

A Cbr3 é eficaz no controle da toxicidade leucocitária⁸⁹, que está associada a inflamação crônica observada em pacientes com obesidade⁹⁰. A Txn protege o espermatozoide do estresse oxidativo e sua diminuição foi associada ao aumento da apoptose espermática, aumento de espermatozoides imóveis e imaturos no ejaculado, levando a infertilidade⁸⁵. A PRDX5 localizada em todos os compartimentos subcelulares dos espermatozoides humano e no plasma seminal, predominantemente encontrada na cabeça (região pós-acrossômica) e bainha mitocondrial, foi identificada como uma proteína associada à ligação do espermatozoide a zona pelúcida⁹¹, servindo como biomarcador da fertilidade masculina⁹². As 3 proteínas foram encontradas diminuídas na próstata de animais diabéticos quando comparados ao controle.

Foram identificadas 5 proteínas com funções isoladas. A *moesin* (Msn), *decorin* (Dcn), *eukaryotic translation elongation factor 1 alpha* (Eef1a1), *calcium regulated heat stable protein 1* (CARHSP1).

As proteínas Msn e Eef1a1 desempenham um papel fundamental na manutenção da organização de estruturas subcelulares, com localização no citoesqueleto. Estas proteínas participam ativamente na dinâmica da actina e dos microtúbulos, contribuindo para a ancoragem da membrana plasmática. Essas funções têm um impacto significativo na estrutura e no movimento celular⁹³. A Msn está envolvida na remodelação da membrana espermática, controlando a ligação direta entre o CD46 e os filamentos de actina e indiretamente com as integrinas $\beta 1$, que atuam na comunicação entre as células e o ambiente extracelular⁹⁴. Sua depleção afeta a capacitação espermática, já que ajuda os espermatozoides a adquirirem as propriedades necessárias para fertilizar o oócito^{95,96}. A

Eef1A interage com moléculas de sinalização e proteínas envolvidas em vias de crescimento e sobrevivência celular, sugerindo a regulação das respostas celulares a estímulos ambientais e estresse, como apoptose ⁹⁷.

A Dcn é uma proteína localizada no espaço extracelular responsável por regular a montagem da matriz extracelular, envolvida na fixação celular e na migração celular ⁹⁸. Essa molécula é associada a processos fisiológicos, incluindo respostas inflamatórias ⁹⁹, que ocorrem na próstata de obesos e diabéticos ^{100,101}. A administração sistêmica de Dcn inibe a fosforilação dos receptores de andrógeno ^{102,103}.

A CARHSP1 está predominantemente localizada no citoplasma celular ¹⁰⁴, onde atua na ligação e regulação da estabilidade do mRNA ao alvo específico, para a síntese de proteínas ¹⁰⁵. Liga-se principalmente ao DNA de fita simples, participando dos estágios da replicação e transcrição do DNA e dos corpos de processamentos e exossomos. Além disso, está envolvida na regulação dos processos de degradação do RNA na célula ¹⁰⁴.

A CARHSP1 é uma proteína de regulação do cálcio intracelular ¹⁰⁶, íon fundamental para vias de sinalização ¹⁰⁷, relacionados ao crescimento e diferenciação celular na próstata ^{104,108,109}. Essa proteína é considerada um biomarcador relevante para complicações do diabetes, pois tem a capacidade de inibir a expressão do gene envolvido na gliconeogênese, servindo como biomarcador para diagnóstico e o tratamento de complicações decorrentes do diabetes ^{110,111}.

Em nosso estudo a Dcn foi a única proteína encontrada aumentada na próstata de ratos diabéticos quando comparado ao controle, o que pode ser justificado pelo seu envolvimento com a resposta inflamatória. A CARHSP1 foi menos abundante na próstata de obesos e diabéticos o que pode estar associado ao envolvimento na manutenção do tecido prostático e sinalização celular. Já a Msn e Eef1a1 foram diminuídas apenas na próstata dos animais diabéticos, quando comparados ao controle. A Msn é uma proteína importante na manutenção citoesqueleto e tem relação com as funções espermáticas. A Eef1a1 está relacionada a resposta ao estresse o que tem relação com a manutenção do tecido prostático e as células espermáticas, quando o plasma seminal entra em contato com os espermatozoides.

Na próstata de animais obesos, foram encontradas especificamente 2 proteínas diminuídas, a *lumican* (Lum) e *keratin 73* (KRT73).

A Lum é uma proteína pertencente à família de pequenos proteoglicanos, que compõem uma fração considerável da matriz extracelular ¹¹², identificada no líquido prostático ¹¹³. É uma proteína de maior abundância em obesos ¹¹⁴, que impacta

negativamente a regulação do metabolismo lipídico, homeostase da glicose e inflamação do tecido adiposo gonadal, ¹¹⁵. Sua função na próstata não está estabelecida. No presente estudo essa proteína estava diminuída na próstata de animais obesos e pode ter relação com a manutenção do tecido prostático.

A *keratin 73* (KRT73), proteína localizada no citoesqueleto, compõe os filamentos de queratina, citoqueratina que é expressa principalmente em tecidos epiteliais. Esta proteína fornece resistência e suporte mecânico às células epiteliais, ajudando a proteger os tecidos contra o estresse mecânico e outras agressões externas ¹¹⁶. Sua expressão foi correlacionada positivamente com maior qualidade dos espermatozoides de touros ¹¹⁷. A localização da Krt73 na próstata não está bem estabelecida. No nosso estudo a Krt73 foi a única proteína encontrada aumentada na próstata de animais obesos, podendo indicar um mecanismo compensatório na organização do tecido.

Fluido da vesícula seminal

No fluido da vesícula seminal foram identificadas 8 proteínas com abundância diferencial. A composição do plasma seminal, em humanos, advém de 65 a 75% do fluido seminal ¹³. A identificação das proteínas presentes nesse fluido, bem como influenciam as funções dos espermatozoides, são importantes para compreender os mecanismos subjacentes à fertilização, comprometida em diabéticos e obesos.

A *Serine protease inhibitor Kazal-type 1-like* (Spink11) é um inibidor da atividade da *serine protease 1* (Prss1), evitando a proteólise excessiva de substratos específicos, em processos fisiológicos, como, clivagem de proteínas e vias de sinalização, diferenciação celular ou remodelação tecidual. Disfunções na interação entre a PRSS1 e a SPINK11 podem estar associadas a distúrbios inflamatórios ^{118,119}. Nossos resultados indicaram que a Spink11 foi mais abundante em indivíduos obesos, enquanto a Prss1 mostrou maior abundância em obesos e diabéticos. Ambas as proteínas são consideradas abundantes nas vesículas seminais, o que sugere que podem influenciar a fertilidade e a fisiologia do trato reprodutivo feminino pelos seus efeitos nos espermatozoides. A Spink11 pode atuar como um inibidor de protease, protegendo os espermatozoides contra a degradação proteolítica excessiva, enquanto a Prss1 pode estar envolvida na modificação do ambiente uterino para promover a fertilização ¹²⁰.

A Prss1 foi relacionada ao bloqueio da polispermia em camundongos ¹²¹, ativação ou inibição de proteínas que regulam esses processos modulação da coagulação e liquefação do sêmen humano ^{122,123}. A diminuição da sua atividade foi associada a redução na qualidade do sêmen de touros, quanto a maturação, integridade, motilidade e capacitação espermática

¹²⁴, corroborando com achado em lepidópteros, onde a mutação da proteína levou a esterilidade do macho ¹²⁵, demonstrando que sua função é conservada entre as diferentes espécies.

Zinc finger, SWIM-type containing 8 (ZSWIM8) e *Zinc finger CCCH-type containing 18* (ZC3H18) são proteínas que pertencem a família *zinc finger* (ZNFs), as quais estão relacionadas aos processos biológicos regulação transcricional¹²⁶, expressão gênica ¹²⁷, migração celular ¹²⁸, diferenciação celular ¹²⁹ e desenvolvimento embrionário ¹³⁰. A ZSWIM8 e ZC3H18 é expressa em diferentes tecidos, e está relacionada a redução das atividades das proteínas *argonautes*, componentes dos complexos de silenciamento mediado por RNA e, desta forma, são reguladoras da expressão gênica ^{131,132}. As ZSWIM8 exibem semelhanças genéticas homologia em humanos e ratos, e sua expressão foi relatada nos testículos ¹³⁰. A modulação negativa dos RNAs pode resultar em estresse oxidativo, associados ao diabetes (Saeedi Borujeni et al., 2019).

Não existem relatos na literatura dessas proteínas na vesícula seminal, podendo suas funções serem relacionadas as supracitadas. A ZSWIM8 foi encontrada no presente estudo em maior abundância no grupo obeso, enquanto a ZC3H18 estava em menor abundância nos obesos e diabéticos. Essas proteínas são foco de estudos atuais ^{130,131}.

As proteínas CCDC (*Coiled-coil domain containing*) são expressas em diferentes tecidos e apresentam uma ampla variedade de localizações celulares, participando de processos fisiológicos ¹³⁴, como na organização e função das membranas celulares, recrutando proteínas associadas aos ribossomos e regulando a organização do retículo endoplasmático ¹³⁵. Na reprodução masculina, essas proteínas foram evidenciadas no controle da espermatogênese ^{136,137}, no núcleo de espermátócitos e espermatogônias do testículo humano ¹³⁸, motilidade dos espermatozoides, por ser um regulador de dineína, sendo associada a pacientes astenozoospermicos com níveis baixos dessa proteína¹³⁹⁻¹⁴¹. A deleção do seu gene causou esterilidade em camundongos machos, devido a má-formação no acoplamento cabeça-cauda do espermatozoide, axonema e mitocôndrias, levando a infertilidade ^{137,142}.

Em nossos estudos a CCDC175 foi encontrada aumentada no grupo diabético, diferindo dos achados ¹³⁴⁻¹⁴². É importante ressaltar que, especificamente para a CCDC175, sua presença é relatada em baixas concentrações na vesícula seminal de homens, conforme identificado em nosso estudo em ratos obesos em comparação com o grupo controle ¹⁴³. Esses resultados sugerem uma possível associação entre a CCDC175 e a condição do diabetes.

Peptidase S1 domain-containing protein (S1 Peptidase) pertence a uma família de proteínas que possui função proteolítica, e suas funções são relacionados ao tampão de acasalamento em camundongos, processo de descapacitação e imunidade, alterações em sua abundância pode levar a infertilidade ^{144,145 146}. A maior abundância dessa proteína foi relacionada a velocidade de natação e hiperativação dos espermatozoides ¹⁴⁷, contribuindo na maturação, proteção, capacitação e fertilização dos espermatozoides ¹⁴⁸. Em nosso estudo a S1 peptidase foi encontrada diminuída tanto nos obesos quanto nos diabéticos quando comparados ao controle. Especificamente a S1 Peptidase, não existem relatos da sua função no fluido da vesícula seminal, podendo sua função ser relacionadas com as demais proteínas da família de peptidase.

A *Albumin* (Alb) é uma proteína normalmente presente no fluido seminal e desempenha um papel importante na composição e função desse fluido, estão envolvidas na redução do estresse oxidativo, protegendo os espermatozoides de danos, sendo identificada como biomarcador de atenozoospermia ¹⁴⁹. A Alb é responsável por induzir a capacitação espermática, que é desencadeada após a liberação da glicodelina S na cavidade uterina, pois inibe o efluxo de colesterol dos espermatozoides, impedindo a capacitação prematura dos espermatozoides, garantindo que eles mantenham sua capacidade de fertilização até encontrarem o óvulo ^{150,151}. Essa proteína é uma das mais abundantes identificadas no plasma seminal de coelhos. Sua presença em grande quantidade indica seu potencial papel na fisiologia reprodutiva da espécie, devido a capacidade de transportar lipídios e outros compostos para as membranas celulares, fornecendo nutrientes e substratos essenciais para os espermatozoides e função antioxidante, importantes para viabilidade e a integridade espermática ¹⁵².

A Alb desempenha um papel significativo na regulação da motilidade espermática do garanhão e pode ser considerada um potencial biomolécula associada à fertilidade ¹⁵³. A Alb está positivamente correlacionada com parâmetros de qualidade do sêmen, como volume seminal, motilidade, porcentagem de espermatozoides vivos e integridade acrossômica ¹⁵⁴. No presente estudo essa proteína foi encontrada em menor abundância nos grupos obesos e diabéticos.

Keratin, type I cytoskeletal 10 (krt10) são altamente expressão em espermatozoides de pacientes inférteis e com astenozoospermia ^{155,156}, com epididimite ¹⁵⁷, são também encontrados no núcleo de espermatozoides humano ¹⁵⁸, e sofrem fosforilação durante a capacitação ¹⁵⁹. No plasma seminal de suíno, sua expressão ou regulação está associada a fertilidade, devido a resposta a taxa de parto e tamanho da ninhada ¹⁶⁰. E em coelhos sua

função celular foi identificada importante para o movimento celular ¹⁶¹. Em nossos resultados a Krt10 foi altamente expressa em indivíduos obesos.

CONCLUSÃO

As descobertas deste estudo revelam diferenças nas proteínas encontradas nos tecidos prostáticos e no fluido das vesículas seminais de ratos diabéticos e obesos, em comparação com os controles. Essas diferenças são significativas, pois foram identificadas proteínas que desempenham papéis críticos no funcionamento adequado da próstata e da vesícula seminal, afetando diretamente a atividade androgênica, motilidade espermática, integridade celular, proteção contra estresse oxidativo e fertilização. Essas descobertas fornecem uma base importante para futuras investigações sobre os mecanismos subjacentes e possíveis biomarcadores de infertilidade masculina nessas condições. Esse é o primeiro estudo que utiliza a proteômica para investigar os efeitos dessas comorbidades em glândulas sexuais acessórias.

CONTEÚDO ASSOCIADO

Informações de Apoio

Normalização dos dados obtidos da próstata e fluido da vesícula seminal (Figura 1 e 2). Ontologia genética da próstata e fluido da vesícula seminal (Figura 3 e 4). Comparação das proteínas diferencialmente expressas identificadas no tecido prostático pelo teste ANOVA e pela curva ROC (Tabela suplementar 1). Análise de ontologia genética de processos biológicos, componentes celulares e funções moleculares da próstata e fluido da vesícula seminal (Tabela suplementar 2 e 3). Proteínas diferencialmente expressas entre os grupos controle, diabético e obeso, do tecido prostático e do fluido da vesícula seminal (Tabela suplementar 4 e 5).

Notas

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil (código de financiamento 001). Os autores também gostariam de agradecer ao Centro Brasileiro de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) pela análise de espectrometria de massa.

REFERÊNCIAS

- (1) Ritchie, H.; Roser, M. *Obesity*. Our World in Data. <https://ourworldindata.org/obesity> (accessed 2021-03-21).
- (2) Pedersen, S. D. Metabolic Complications of Obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **2013**, 27 (2), 179–193. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.02.004>.
- (3) Wisevoter. *Most Obese Countries*. <https://wisevoter.com/country-rankings/most-obese-countries/#map> (accessed 2023-08-15).
- (4) Alberti, K. G. M. M.; Zimmet, P. Z. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. In *Definintion, Dignosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications*; 1999; p 49. <https://doi.org/WHO/NCD/NCS/99.2>.
- (5) Roglic, G.; Unwin, N.; Bennett, P.; Mathers, C.; Tuomilehto, J.; Nag, S.; Connolly, V.; King, H. The Burden of Mortality Attributable to Diabetes. *Diabetes Care* **2005**, 28 (9), 6.
- (6) WHO. *1 in 6 people globally affected by infertility: WHO*. <https://www.who.int/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility#:~:text=Large%20numbers%20of%20people%20are,care%20for%20those%20in%20need>. (accessed 2023-08-15).
- (7) Wisevoter. *Diabetes Rates by Country*. <https://wisevoter.com/country-rankings/diabetes-rates-by-country/> (accessed 2023-08-15).
- (8) Matos, F. *Infertilidade: como enfrentar o diagnóstico e buscar o tratamento adequado*. <https://sbra.com.br/noticias/infertilidade-como-enfrentar-o-diagnostico-e-buscar-o-tratamento-adequado/> (accessed 2023-08-16).
- (9) Cui, W. Mother of Nothing: The Agony of Infertility. *Bull World Health Organ* **2010**, 88 (12), 881–882. <https://doi.org/10.2471/BLT.10.011210>.
- (10) Heryanto, A.; I Gusti Ngurah Pramesemara; Yukhi Kurniawan; I Gusti Ayu Widiанти. Relationship Between Body Mass Index and Male Infertility at Kasih Ibu General Hospital Denpasar. *Indonesian Andrology and Biomedical Journal* **2022**, 3 (1), 1–6. <https://doi.org/10.20473/iabj.v3i1.35876>.
- (11) Zhang, Y.; Qi, J.; Zhao, J.; Li, M.; Zhang, Y.; Hu, H.; Wei, L.; Zhou, K.; Qin, H.; Qu, P.; Cao, W.; Liu, E. Effect of Dietetic Obesity on Testicular Transcriptome in Cynomolgus Monkeys. *Genes (Basel)* **2023**, 14 (3), 557. <https://doi.org/10.3390/genes14030557>.
- (12) Bicudo, S. D.; Siqueira, J. B.; Meira, C. Patologias Do Sistema Reprodutor de Touros. *Biológico* **2007**, 69 (2), 43–48.

- 584 (13) Samanta, L.; Parida, R.; Dias, T. R.; Agarwal, A. The Enigmatic Seminal Plasma: A
 585 Proteomics Insight from Ejaculation to Fertilization. *Reproductive Biology and*
 586 *Endocrinology* **2018**, *16* (1), 41. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0358-6>.
- 587 (14) Aalberts, M.; Stout, T. A. E.; Stoorvogel, W. Prostatosomes: Extracellular Vesicles
 588 from the Prostate. *REPRODUCTION* **2014**, *147* (1), R1–R14. <https://doi.org/10.1530/REP->
 589 [13-0358](https://doi.org/10.1530/REP-13-0358).
- 590 (15) Yeung, C. Studies on the Origin of Redox Enzymes in Seminal Plasma and Their
 591 Relationship with Results of In-Vitro Fertilization. *Mol Hum Reprod* **1998**, *4* (9), 835–839.
 592 <https://doi.org/10.1093/molehr/4.9.835>.
- 593 (16) Zhao, J.; Dong, X.; Hu, X.; Long, Z.; Wang, L.; Liu, Q.; Sun, B.; Wang, Q.; Wu, Q.;
 594 Li, L. Zinc Levels in Seminal Plasma and Their Correlation with Male Infertility: A
 595 Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep* **2016**, *6* (1), 22386.
 596 <https://doi.org/10.1038/srep22386>.
- 597 (17) Aumüller, G.; Riva, A. Morphology and Functions of the Human Seminal Vesicle.
 598 *Andrologia* **2009**, *24* (4), 183–196. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1992.tb02636.x>.
- 599 (18) Clavert, A.; Cranz, C.; Bollack, C. Functions of the Seminal Vesicle: Funktionen Der
 600 Bläschendrüse. *Andrologia* **1990**, *22* (S1), 185–192. <https://doi.org/10.1111/j.1439->
 601 [0272.1990.tb02084.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1990.tb02084.x).
- 602 (19) Yannasithinon, S.; Iamsaard, S. Alterations of Morphology and Phosphorylated
 603 Protein Expression in the Seminal Vesicles of Diabetic Mice. *Andrologia* **2019**, *51* (10).
 604 <https://doi.org/10.1111/and.13406>.
- 605 (20) Sampanang, A.; Arun, S.; Sukhorum, W.; Burawat, J.; Nualkaew, S.; Maneenin, C.;
 606 Sripanidkulchai, B.; Iamsaard, S. Antioxidant and Hypoglycemic Effects of Momordica
 607 Cochinchinensis Spreng: (Gac) Aril Extract on Reproductive Damages in Streptozotocin
 608 (STZ)-Induced Hyperglycemia Mice. *International Journal of Morphology* **2017**, *35* (2),
 609 667–675. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000200046>.
- 610 (21) Tsounapi, P.; Honda, M.; Dimitriadis, F.; Kawamoto, B.; Hikita, K.; Muraoka, K.;
 611 Saito, M.; Sofikitis, N.; Takenaka, A. Impact of Antioxidants on Seminal Vesicles Function
 612 and Fertilizing Potential in Diabetic Rats. *Asian J Androl* **2017**, *19* (6), 639.
 613 <https://doi.org/10.4103/1008-682X.186871>.
- 614 (22) Leisegang, K.; Bouic, P. J. D.; Henkel, R. R. Metabolic Syndrome Is Associated with
 615 Increased Seminal Inflammatory Cytokines and Reproductive Dysfunction in a Case-
 616 Controlled Male Cohort. *American Journal of Reproductive Immunology* **2016**, *76* (2), 155–
 617 163. <https://doi.org/10.1111/aji.12529>.

- 618 (23) Blando, J.; Moore, T.; Hursting, S.; Jiang, G.; Saha, A.; Beltran, L.; Shen, J.; Repass,
619 J.; Strom, S.; DiGiovanni, J. Dietary Energy Balance Modulates Prostate Cancer Progression
620 in Hi-Myc Mice. *Cancer Prevention Research* **2011**, *4* (12), 2002–2014.
621 <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0182>.
- 622 (24) Pei, L.; Yang, G.; Jiang, J.; Jiang, R.; Deng, Q.; Chen, B.; Gan, X. Expression of
623 Aquaporins in Prostate and Seminal Vesicles of Diabetic Rats. *J Sex Med* **2013**, *10* (12),
624 2975–2985. <https://doi.org/10.1111/jsm.12276>.
- 625 (25) Jackson, F. L.; Hutson, J. C. Altered Responses to Androgen in Diabetic Male Rats.
626 *Diabetes* **1984**, *33* (9), 819–824. <https://doi.org/10.2337/diab.33.9.819>.
- 627 (26) Carvalho, M. G.; Silva, K. M.; Aristizabal, V. H. V.; Ortiz, P. E. O.; Paranzini, C. S.;
628 Melchert, A.; Amaro, J. L.; Souza, F. F. Effects of Obesity and Diabetes on Sperm Cell
629 Proteomics in Rats. *J Proteome Res* **2021**, *20* (5), 2628–2642.
630 <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c01044>.
- 631 (27) Peach, M.; Marsh, N.; MacPhee, D. J. Protein Solubilization: Attend to the Choice
632 of Lysis Buffer. In *Methods in Molecular Biology*; Totowa, 2012; Vol. 869, pp 37–47.
633 https://doi.org/10.1007/978-1-61779-821-4_4.
- 634 (28) Souza, F.; Chirinéa, V.; Martins, M.; Lopes, M. Osteopontin in Seminal Plasma and
635 Sperm Membrane of Dogs. *Reproduction in Domestic Animals* **2009**, *44*, 283–286.
636 <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01447.x>.
- 637 (29) Baker, S. S.; Cardullo, R. A.; Thaler, C. D. Sonication of Mouse Sperm Membranes
638 Reveals Distinct Protein Domains1. *Biol Reprod* **2002**, *66* (1), 57–64.
639 <https://doi.org/10.1095/biolreprod66.1.57>.
- 640 (30) Jakobs, C.; Bartok, E.; Kubarenko, A.; Bauernfeind, F.; Hornung, V. Immunoblotting
641 for Active Caspase-1. In *Methods in Molecular Biology*; New York, 2013; Vol. 1040, pp
642 103–115. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-523-1_9.
- 643 (31) Neuhoff, V.; Stamm, R.; Eibl, H. Clear Background and Highly Sensitive Protein
644 Staining with Coomassie Blue Dyes in Polyacrylamide Gels: A Systematic Analysis.
645 *Electrophoresis* **1985**, *6* (9), 427–448. <https://doi.org/10.1002/elps.1150060905>.
- 646 (32) Luo, S.; Wehr, N. B.; Levine, R. L. Quantitation of Protein on Gels and Blots by
647 Infrared Fluorescence of Coomassie Blue and Fast Green. *Anal Biochem* **2006**, *350* (2), 233–
648 238. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.10.048>.
- 649 (33) Shevchenko, A.; Wilm, M.; Vorm, O.; Mann, M. Mass Spectrometric Sequencing of
650 Proteins from Silver-Stained Polyacrylamide Gels. *Anal Chem* **1996**, *68* (5), 850–858.
651 <https://doi.org/10.1021/ac950914h>.

- 652 (34) The UniProt Consortium. UniProt: A Worldwide Hub of Protein Knowledge. *Nucleic*
653 *Acids Res* **2019**, 47 (Database issue), D506–D5012. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1049>.
- 654 (35) Sherman, B. T.; Hao, M.; Qiu, J.; Jiao, X.; Baseler, M. W.; Lane, H. C.; Imamichi,
655 T.; Chang, W. DAVID: A Web Server for Functional Enrichment Analysis and Functional
656 Annotation of Gene Lists (2021 Update). *Nucleic Acids Res* **2022**, 50 (W1), W216–W221.
657 <https://doi.org/10.1093/nar/gkac194>.
- 658 (36) Xia, J.; Wishart, D. S. Using MetaboAnalyst 3.0 for Comprehensive Metabolomics
659 Data Analysis. *Curr Protoc Bioinformatics* **2016**, 55 (1). <https://doi.org/10.1002/cpbi.11>.
- 660 (37) KOCHAKIAN, C. D. Hypotaaurine: Regulation of Production in Seminal Vesicles
661 and Prostate of Guinea-Pig by Testosterone. *Nature* **1973**, 241 (5386), 202–203.
662 <https://doi.org/10.1038/241202a0>.
- 663 (38) Dickerman, B. A.; Ahearn, T. U.; Giovannucci, E.; Stampfer, M. J.; Nguyen, P. L.;
664 Mucci, L. A.; Wilson, K. M. Weight Change, Obesity and Risk of Prostate Cancer
665 Progression among Men with Clinically Localized Prostate Cancer. *Int J Cancer* **2017**, 141
666 (5), 933–944. <https://doi.org/10.1002/ijc.30803>.
- 667 (39) Winderickx, J.; Hemschoote, K.; De Clercq, N.; Van Dijck, P.; Peeters, B.; Rombauts,
668 W.; Verhoeven, G.; Heyns, W. Tissue-Specific Expression and Androgen Regulation of
669 Different Genes Encoding Rat Prostatic 22-Kilodalton Glycoproteins Homologous to
670 Human and Rat Cystatin. *Molecular Endocrinology* **1990**, 4 (4), 657–667.
671 <https://doi.org/10.1210/mend-4-4-657>.
- 672 (40) Parker, M.; Needham, M.; White, R.; Hurst, H.; Page, M. Prostatic Steroid Binding
673 Protein: Organisation of C1 and C2 Genes. *Nucleic Acids Res* **1982**, 10 (17), 5121–5132.
674 <https://doi.org/10.1093/nar/10.17.5121>.
- 675 (41) Holt, M. Cell Motility: Proline-Rich Proteins Promote Protrusions. *Trends Cell Biol*
676 **2001**, 11 (1), 38–46. [https://doi.org/10.1016/S0962-8924\(00\)01876-6](https://doi.org/10.1016/S0962-8924(00)01876-6).
- 677 (42) Greenberg, N. M.; DeMayo, F. J.; Sheppard, P. C.; Barrios, R.; Lebovitz, R.;
678 Finegold, M.; Angelopoulou, R.; Dodd, J. G.; Duckworth, M. L.; Rosen, J. M.; Matusik, R.
679 J. The Rat Probasin Gene Promoter Directs Hormonally and Developmentally Regulated
680 Expression of a Heterologous Gene Specifically to the Prostate in Transgenic Mice.
681 *Molecular Endocrinology* **1994**, 8 (2), 230–239. <https://doi.org/10.1210/mend.8.2.8170479>.
- 682 (43) Parker, M.; Needham, M.; White, R. Prostatic Steroid Binding Protein: Gene
683 Duplication and Steroid Binding. *Nature* **1982**, 298 (5869), 92–94.
684 <https://doi.org/10.1038/298092a0>.

- 685 (44) Wang, Z.; Tufts, R.; Haleem, R.; Cai, X. Genes Regulated by Androgen in the Rat
686 Ventral Prostate. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1997**, *94* (24), 12999–
687 13004. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.24.12999>.
- 688 (45) Zhang, Y. L.; Zhou, Z. X.; Zhang, Y. D.; Parker, M. G. Expression of Androgen
689 Receptors and Prostatic Steroid-Binding Protein during Development of the Rat Ventral
690 Prostate. *Journal of Endocrinology* **1988**, *117* (3), 361-NP.
691 <https://doi.org/10.1677/joe.0.1170361>.
- 692 (46) Fujihara, Y.; Noda, T.; Kobayashi, K.; Oji, A.; Kobayashi, S.; Matsumura, T.;
693 Larasati, T.; Oura, S.; Kojima-Kita, K.; Yu, Z.; Matzuk, M. M.; Ikawa, M. Identification of
694 Multiple Male Reproductive Tract-Specific Proteins That Regulate Sperm Migration
695 through the Oviduct in Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2019**, *116*
696 (37), 18498–18506. <https://doi.org/10.1073/pnas.1908736116>.
- 697 (47) Motrich, R. D.; Maccioni, M.; Ponce, A. A.; Gatti, G. A.; Oberti, J. P. M.; Rivero, V.
698 E. Pathogenic Consequences in Semen Quality of an Autoimmune Response against the
699 Prostate Gland: From Animal Models to Human Disease. *The Journal of Immunology* **2006**,
700 *177* (2), 957–967. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.2.957>.
- 701 (48) Wu, C.-T.; Altuwaijri, S.; Rieke, W. A.; Huang, S.-P.; Yeh, S.; Zhang, C.; Niu, Y.;
702 Tsai, M.-Y.; Chang, C. Increased Prostate Cell Proliferation and Loss of Cell Differentiation
703 in Mice Lacking Prostate Epithelial Androgen Receptor. *Proceedings of the National*
704 *Academy of Sciences* **2007**, *104* (31), 12679–12684.
705 <https://doi.org/10.1073/pnas.0704940104>.
- 706 (49) Yean Wong, R. L.; Wang, Q.; Treviño, L. S.; Bosland, M. C.; Chen, J.; Medvedovic,
707 M.; Prins, G. S.; Kannan, K.; Ho, S.-M.; Walker, C. L. Identification of Secretoglobin
708 *Scgb2a1* as a Target for Developmental Reprogramming by BPA in the Rat Prostate.
709 *Epigenetics* **2015**, *10* (2), 127–134. <https://doi.org/10.1080/15592294.2015.1009768>.
- 710 (50) Furmanik, M.; van Gorp, R.; Whitehead, M.; Ahmad, S.; Bordoloi, J.; Kapustin, A.;
711 Schurgers, L. J.; Shanahan, C. M. Endoplasmic Reticulum Stress Mediates Vascular Smooth
712 Muscle Cell Calcification via Increased Release of Grp78 (Glucose-Regulated Protein, 78
713 kDa)-Loaded Extracellular Vesicles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2021**, *41* (2), 898–914.
714 <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.120.315506>.
- 715 (51) Kim, J.-H.; Park, S.-J.; Kim, T.-S.; Park, H.-J.; Park, J.; Kim, B. K.; Kim, G.-R.; Kim,
716 J.-M.; Huang, S. M.; Chae, J.-I.; Park, C.-K.; Lee, D.-S. Testicular Hyperthermia Induces
717 Unfolded Protein Response Signaling Activation in Spermatocyte. *Biochem Biophys Res*
718 *Commun* **2013**, *434* (4), 861–866. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.04.032>.

- 719 (52) Yu, Z.; Luo, H.; Fu, W.; Mattson, M. P. The Endoplasmic Reticulum Stress-
 720 Responsive Protein GRP78 Protects Neurons Against Excitotoxicity and Apoptosis:
 721 Suppression of Oxidative Stress and Stabilization of Calcium Homeostasis. *Exp Neurol*
 722 **1999**, *155* (2), 302–314. <https://doi.org/10.1006/exnr.1998.7002>.
- 723 (53) Almanza, A.; Carlesso, A.; Chintla, C.; Creedican, S.; Doultzinos, D.; Leuzzi, B.;
 724 Luís, A.; McCarthy, N.; Montibeller, L.; More, S.; Papaioannou, A.; Püschel, F.; Sassano,
 725 M. L.; Skoko, J.; Agostinis, P.; de Belleruche, J.; Eriksson, L. A.; Fulda, S.; Gorman, A. M.;
 726 Healy, S.; Kozlov, A.; Muñoz-Pinedo, C.; Rehm, M.; Chevet, E.; Samali, A. Endoplasmic
 727 Reticulum Stress Signalling – from Basic Mechanisms to Clinical Applications. *FEBS J*
 728 **2019**, *286* (2), 241–278. <https://doi.org/10.1111/febs.14608>.
- 729 (54) Williams, D. B. Beyond Lectins: The Calnexin/Calreticulin Chaperone System of the
 730 Endoplasmic Reticulum. *J Cell Sci* **2006**, *119* (4), 615–623.
 731 <https://doi.org/10.1242/jcs.02856>.
- 732 (55) Ghaderi, S.; Ahmadian, S.; Soheili, Z.; Ahmadi, H.; Samiei, S.; Kheitan, S.;
 733 Pirmardan, E. R. AAV Delivery of GRP78/BiP Promotes Adaptation of Human RPE Cell to
 734 ER Stress. *J Cell Biochem* **2018**, *119* (2), 1355–1367. <https://doi.org/10.1002/jcb.26296>.
- 735 (56) Wijeyesakere, S. J.; Bedi, S. K.; Huynh, D.; Raghavan, M. The C-Terminal Acidic
 736 Region of Calreticulin Mediates Phosphatidylserine Binding and Apoptotic Cell
 737 Phagocytosis. *The Journal of Immunology* **2016**, *196* (9), 3896–3909.
 738 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502122>.
- 739 (57) Boden, G.; Duan, X.; Homko, C.; Molina, E. J.; Song, W.; Perez, O.; Cheung, P.;
 740 Merali, S. Increase in Endoplasmic Reticulum Stress–Related Proteins and Genes in Adipose
 741 Tissue of Obese, Insulin-Resistant Individuals. *Diabetes* **2008**, *57* (9), 2438–2444.
 742 <https://doi.org/10.2337/db08-0604>.
- 743 (58) Cultrara, C. N.; Kozuch, S. D.; Ramasundaram, P.; Heller, C. J.; Shah, S.; Beck, A.
 744 E.; Sabatino, D.; Zilberberg, J. GRP78 Modulates Cell Adhesion Markers in Prostate Cancer
 745 and Multiple Myeloma Cell Lines. *BMC Cancer* **2018**, *18* (1), 1263.
 746 <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5178-8>.
- 747 (59) Alur, M.; Nguyen, M. M.; Eggener, S. E.; Jiang, F.; Dadras, S. S.; Stern, J.; Kimm,
 748 S.; Roehl, K.; Kozlowski, J.; Pins, M.; Michalak, M.; Dhir, R.; Wang, Z. Suppressive Roles
 749 of Calreticulin in Prostate Cancer Growth and Metastasis. *Am J Pathol* **2009**, *175* (2), 882–
 750 890. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080417>.
- 751 (60) Lu, A.; Pallero, M. A.; Owusu, B. Y.; Borovjagin, A. V.; Lei, W.; Sanders, P. W.;
 752 Murphy-Ullrich, J. E. Calreticulin Is Important for the Development of Renal Fibrosis and

- 753 Dysfunction in Diabetic Nephropathy. *Matrix Biol Plus* **2020**, *8*, 100034.
 754 <https://doi.org/10.1016/j.mbplus.2020.100034>.
- 755 (61) Wells, A. D.; Malkovsky, M. Heat Shock Proteins, Tumor Immunogenicity and
 756 Antigen Presentation: An Integrated View. *Immunol Today* **2000**, *21* (3), 129–132.
 757 [https://doi.org/10.1016/S0167-5699\(99\)01558-3](https://doi.org/10.1016/S0167-5699(99)01558-3).
- 758 (62) Robinson, M. B.; Taylor, A. R.; Gifondorwa, D. J.; Tytell, M.; Milligan, C. E.
 759 Exogenous Hsc70, but Not Thermal Preconditioning, Confers Protection to Motoneurons
 760 Subjected to Oxidative Stress. *Dev Neurobiol* **2008**, *68* (1), 1–17.
 761 <https://doi.org/10.1002/dneu.20550>.
- 762 (63) Arispe, N.; Doh, M.; Simakova, O.; Kurganov, B.; Maio, A. De. Hsc70 and Hsp70
 763 Interact with Phosphatidylserine on the Surface of PC12 Cells Resulting in a Decrease of
 764 Viability. *The FASEB Journal* **2004**, *18* (14), 1636–1645. [https://doi.org/10.1096/fj.04-](https://doi.org/10.1096/fj.04-2088com)
 765 [2088com](https://doi.org/10.1096/fj.04-2088com).
- 766 (64) Ajayi, A. F.; Lateef, O. M.; Adebayo, O. I.; Adebayo, E. T. Hsps70 and 90 Protect the
 767 Heart of Hyperthyroid Rats via Nitric Oxide Production and VEGF Inhibition of Apoptosis.
 768 *Endocrine and Metabolic Science* **2021**, *4*, 100097.
 769 <https://doi.org/10.1016/j.endmts.2021.100097>.
- 770 (65) Alvarez-Rodríguez, M.; Alvarez, M.; Borragan, S.; Martinez-Pastor, F.; Holt, W. V.;
 771 Fazeli, A.; de Paz, P.; Anel, L. The Addition of Heat Shock Protein HSPA8 to Cryoprotective
 772 Media Improves the Survival of Brown Bear (*Ursus Arctos*) Spermatozoa during Chilling
 773 and after Cryopreservation. *Theriogenology* **2013**, *79* (3), 541–550.
 774 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.006>.
- 775 (66) Lloyd, R. E.; Fazeli, A.; Watson, P. F.; Holt, W. V. The Oviducal Protein, Heat-Shock
 776 70-KDa Protein 8, Improves the Long-Term Survival of Ram Spermatozoa during Storage
 777 at 17°C in a Commercial Extender. *Reprod Fertil Dev* **2012**, *24* (4), 543.
 778 <https://doi.org/10.1071/RD11173>.
- 779 (67) Skerrett-Byrne, D. A.; Anderson, A. L.; Hulse, L.; Wass, C.; Dun, M. D.; Bromfield,
 780 E. G.; De Iuliis, G. N.; Pyne, M.; Nicolson, V.; Johnston, S. D.; Nixon, B. Proteomic Analysis
 781 of Koala (*Phascolarctos Cinereus*) Spermatozoa and Prostatic Bodies. *Proteomics* **2021**,
 782 *21* (19). <https://doi.org/10.1002/pmic.202100067>.
- 783 (68) Huang, S. Y.; Kuo, Y. H.; Lee, W. C.; Tsou, H. L.; Lee, Y. P.; Chang, H. L.; Wu, J. J.;
 784 Yang, P. C. Substantial Decrease of Heat-Shock Protein 90 Precedes the Decline of Sperm
 785 Motility during Cooling of Boar Spermatozoa. *Theriogenology* **1999**, *51* (5), 1007–1016.
 786 [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00046-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00046-1).

- 787 (69) Huang, S. Y.; Kuo, Y. H.; Lee, Y. P.; Tsou, H. L.; Lin, E. C.; Ju, C. C.; Lee, W. C.
 788 Association of Heat Shock Protein 70 with Semen Quality in Boars. *Anim Reprod Sci* **2000**,
 789 63 (3–4), 231–240. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00175-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00175-5).
- 790 (70) Spinaci, M.; Volpe, S.; Bernardini, C.; De Ambrogi, M.; Tamanini, C.; Seren, E.;
 791 Galeati, G. Immunolocalization of Heat Shock Protein 70 (Hsp 70) in Boar Spermatozoa and
 792 Its Role during Fertilization. *Mol Reprod Dev* **2005**, 72 (4), 534–541.
 793 <https://doi.org/10.1002/mrd.20367>.
- 794 (71) Zannoni, A.; Bernardini, C.; Zaniboni, A.; Ferlizza, E.; Ventrella, D.; Bacci, M. L.;
 795 Forni, M. Relative Abundance of Heat Shock Proteins and Clusterin Transcripts in
 796 Spermatozoa Collected from Boar Routinely Utilised in an Artificial Insemination Centre:
 797 Preliminary Results. *Vet Res Commun* **2017**, 41 (3), 233–239.
 798 <https://doi.org/10.1007/s11259-017-9689-6>.
- 799 (72) Parmar, K. H.; Singh, V.; Savsani, H. H.; Kavani, F. S.; Rajoriya, J. S.; Lone, S. A.
 800 Seasonal Variation in Heat Shock Proteins (Hsp70 and Hsp90) and Their Association with
 801 Frozen Semen Quality and Fertility in Buffaloes. *Cryo Letters* **2021**, 42 (5), 261–266.
- 802 (73) Erata, G. Ö.; Koçak Toker, N.; Durlanık, Ö.; Kadioğlu, A.; Aktan, G.; Aykaç Toker,
 803 G. The Role of Heat Shock Protein 70 (Hsp 70) in Male Infertility: Is It a Line of Defense
 804 against Sperm DNA Fragmentation? *Fertil Steril* **2008**, 90 (2), 322–327.
 805 <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.06.021>.
- 806 (74) Kornberg, R. D. Structure of Chromatin. *Annu Rev Biochem* **1977**, 46 (1), 931–954.
 807 <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.46.070177.004435>.
- 808 (75) Vaughan, P. S.; van der Meijden, C. M. J.; Aziz, F.; Harada, H.; Taniguchi, T.; van
 809 Wijnen, A. J.; Stein, J. L.; Stein, G. S. Cell Cycle Regulation of Histone H4 Gene
 810 Transcription Requires the Oncogenic Factor IRF-2. *Journal of Biological Chemistry* **1998**,
 811 273 (1), 194–199. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.1.194>.
- 812 (76) Schon, S. B.; Luense, L. J.; Wang, X.; Bartolomei, M. S.; Coutifaris, C.; Garcia, B.
 813 A.; Berger, S. L. Histone Modification Signatures in Human Sperm Distinguish Clinical
 814 Abnormalities. *J Assist Reprod Genet* **2019**, 36 (2), 267–275.
 815 <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1354-7>.
- 816 (77) Mahajan, K.; Malla, P.; Lawrence, H. R.; Chen, Z.; Kumar-Sinha, C.; Malik, R.;
 817 Shukla, S.; Kim, J.; Coppola, D.; Lawrence, N. J.; Mahajan, N. P. ACK1/TNK2 Regulates
 818 Histone H4 Tyr88-Phosphorylation and AR Gene Expression in Castration-Resistant
 819 Prostate Cancer. *Cancer Cell* **2017**, 31 (6), 790–803.e8.
 820 <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.05.003>.

- 821 (78) Gruber, C. W.; Čemažar, M.; Heras, B.; Martin, J. L.; Craik, D. J. Protein Disulfide
822 Isomerase: The Structure of Oxidative Folding. *Trends Biochem Sci* **2006**, *31* (8), 455–464.
823 <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.06.001>.
- 824 (79) Tokuhito, K.; Ikawa, M.; Benham, A. M.; Okabe, M. Protein Disulfide Isomerase
825 Homolog PDILT Is Required for Quality Control of Sperm Membrane Protein ADAM3 and
826 Male Fertility. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2012**, *109* (10), 3850–3855.
827 <https://doi.org/10.1073/pnas.1117963109>.
- 828 (80) Page, M. J.; Di Cera, E. Serine Peptidases: Classification, Structure and Function.
829 *Cellular and Molecular Life Sciences* **2008**, *65* (7–8), 1220–1236.
830 <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7565-9>.
- 831 (81) Elango, K.; Karuthadurai, T.; Kumaresan, A.; Sinha, M. K.; Ebenezer Samuel King,
832 J. P.; Nag, P.; Sharma, A.; Raval, K.; Paul, N.; Talluri, T. R. High-Throughput Proteomic
833 Characterization of Seminal Plasma from Bulls with Contrasting Semen Quality. *3 Biotech*
834 **2023**, *13* (2), 60. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03474-6>.
- 835 (82) Peng, Q.; Yang, H.; Xue, S.; Shi, L.; Yu, Q.; Kuang, Y. Secretome Profile of Mouse
836 Oocytes after Activation Using Mass Spectrum. *J Assist Reprod Genet* **2012**, *29* (8), 765–
837 771. <https://doi.org/10.1007/s10815-012-9789-8>.
- 838 (83) Miura, T.; Nishinaka, T.; Terada, T. Different Functions between Human Monomeric
839 Carbonyl Reductase 3 and Carbonyl Reductase 1. *Mol Cell Biochem* **2008**, *315* (1–2), 113–
840 121. <https://doi.org/10.1007/s11010-008-9794-5>.
- 841 (84) Manandhar, G.; Miranda-Vizuete, A.; Pedrajas, J. R.; Krause, W. J.; Zimmerman, S.;
842 Sutovsky, M.; Sutovsky, P. Peroxiredoxin 2 and Peroxidase Enzymatic Activity of
843 Mammalian Spermatozoa1. *Biol Reprod* **2009**, *80* (6), 1168–1177.
844 <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.071738>.
- 845 (85) Moradi, M.; Karimi, J.; Khodadadi, I.; Amiri, I.; Karami, M.; Saidijam, M.;
846 Vatannejad, A.; Tavilani, H. Evaluation of the P53 and Thioredoxin Reductase in Sperm from
847 Asthenozoospermic Males in Comparison to Normozoospermic Males. *Free Radic Biol Med*
848 **2018**, *116*, 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.038>.
- 849 (86) ZINI, A.; LAMIRANDE, E.; GAGNON, C. Reactive Oxygen Species in Semen of
850 Infertile Patients: Levels of Superoxide Dismutase- and Catalase-like Activities in Seminal
851 Plasma and Spermatozoa. *Int J Androl* **1993**, *16* (3), 183–188. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1993.tb01177.x>.

- (87) O'Flaherty, C.; Rico de Souza, A. Hydrogen Peroxide Modifies Human Sperm Peroxiredoxins in a Dose-Dependent Manner. *Biol Reprod* **2011**, *84* (2), 238–247. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.085712>.
- (88) Cheng, L.; Sun, P.; Xie, X.; Sun, D.; Zhou, Q.; Yang, S.; Xie, Q.; Zhou, X. Hepatitis B Virus Surface Protein Induces Oxidative Stress by Increasing Peroxides and Inhibiting Antioxidant Defences in Human Spermatozoa. *Reprod Fertil Dev* **2020**, *32* (14), 1180. <https://doi.org/10.1071/RD20130>.
- (89) Fan, L.; Goh, B.-C.; Wong, C.-I.; Sukri, N.; Lim, S.-E.; Tan, S.-H.; Guo, J.-Y.; Lim, R.; Yap, H.-L.; Khoo, Y.-M.; Iau, P.; Lee, H.-S.; Lee, S.-C. Genotype of Human Carbonyl Reductase CBR3 Correlates with Doxorubicin Disposition and Toxicity. *Pharmacogenet Genomics* **2008**, *18* (7), 623–631. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328301a869>.
- (90) Riley, L. K.; Rupert, J. Evaluation of Patients with Leukocytosis. *Am Fam Physician* **2015**, *92* (11), 1004–1011.
- (91) van Gestel, R. A.; Brewis, I. A.; Ashton, P. R.; Brouwers, J. F.; Gadella, B. M. Multiple Proteins Present in Purified Porcine Sperm Apical Plasma Membranes Interact with the Zona Pellucida of the Oocyte. *MHR: Basic science of reproductive medicine* **2007**, *13* (7), 445–454. <https://doi.org/10.1093/molehr/gam030>.
- (92) Gomes, F. P.; Park, R.; Viana, A. G.; Fernandez-Costa, C.; Topper, E.; Kaya, A.; Memili, E.; Yates, J. R.; Moura, A. A. Protein Signatures of Seminal Plasma from Bulls with Contrasting Frozen-Thawed Sperm Viability. *Sci Rep* **2020**, *10* (1), 14661. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71015-9>.
- (93) Carvalho, M. D. G. D. C.; Carvalho, J. F.; Merrick, W. C. Biological Characterization of Various Forms of Elongation Factor 1 from Rabbit Reticulocytes. *Arch Biochem Biophys* **1984**, *234* (2), 603–611. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(84\)90310-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(84)90310-2).
- (94) Inoue, N.; Ikawa, M.; Nakanishi, T.; Matsumoto, M.; Nomura, M.; Seya, T.; Okabe, M. Disruption of Mouse CD46 Causes an Accelerated Spontaneous Acrosome Reaction in Sperm. *Mol Cell Biol* **2003**, *23* (7), 2614–2622. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.7.2614-2622.2003>.
- (95) Silva, H. V. R.; Rodriguez-Villamil, P.; Magalhães, F. F. de; Nunes, T. G. P.; Freitas, L. A. de; Ribeiro, L. R.; Silva, A. R.; Moura, A. A.; Silva, L. D. M. da. Seminal Plasma and Sperm Proteome of Ring-Tailed Coatis (*Nasua Nasua*, Linnaeus, 1766). *Theriogenology* **2018**, *111*, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.036>.

- 885 (96) Wang, L.; Chen, W.; Zhao, C.; Huo, R.; Guo, X.-J.; Lin, M.; Huang, X.-Y.; Mao, Y.-
 886 D.; Zhou, Z.-M.; Sha, J.-H. The Role of Ezrin-Associated Protein Network in Human Sperm
 887 Capacitation. *Asian J Androl* **2010**, *12* (5), 667–676. <https://doi.org/10.1038/aja.2010.79>.
- 888 (97) Abbas, W.; Kumar, A.; Herbein, G. The EEF1A Proteins: At the Crossroads of
 889 Oncogenesis, Apoptosis, and Viral Infections. *Front Oncol* **2015**, *5*.
 890 <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00075>.
- 891 (98) Ferdous, Z.; Wei, V. M.; Iozzo, R.; Höök, M.; Grande-Allen, K. J. Decorin-
 892 Transforming Growth Factor- β Interaction Regulates Matrix Organization and Mechanical
 893 Characteristics of Three-Dimensional Collagen Matrices. *Journal of Biological Chemistry*
 894 **2007**, *282* (49), 35887–35898. <https://doi.org/10.1074/jbc.M705180200>.
- 895 (99) Koninger, J. The ECM Proteoglycan Decorin Links Desmoplasia and Inflammation
 896 in Chronic Pancreatitis. *J Clin Pathol* **2006**, *59* (1), 21–27.
 897 <https://doi.org/10.1136/jcp.2004.023135>.
- 898 (100) Xue, B.; Wu, S.; Sharkey, C.; Tabatabaei, S.; Wu, C.-L.; Tao, Z.; Cheng, Z.; Strand,
 899 D.; Olumi, A. F.; Wang, Z. Obesity-Associated Inflammation Induces Androgenic to
 900 Estrogenic Switch in the Prostate Gland. *Prostate Cancer Prostatic Dis* **2020**, *23* (3), 465–
 901 474. <https://doi.org/10.1038/s41391-020-0208-4>.
- 902 (101) Aaron-Brooks, L. M.; Sasaki, T.; Vickman, R. E.; Wei, L.; Franco, O. E.; Ji, Y.;
 903 Crawford, S. E.; Hayward, S. W. Hyperglycemia and T Cell Infiltration Are Associated with
 904 Stromal and Epithelial Prostatic Hyperplasia in the Nonobese Diabetic Mouse. *Prostate*
 905 **2019**, *79* (9), 980–993. <https://doi.org/10.1002/pros.23809>.
- 906 (102) Hu, Y.; Sun, H.; Owens, R. T.; Wu, J.; Chen, Y. Q.; Berquin, I. M.; Perry, D.;
 907 O’Flaherty, J. T.; Edwards, I. J. Decorin Suppresses Prostate Tumor Growth through
 908 Inhibition of Epidermal Growth Factor and Androgen Receptor Pathways. *Neoplasia* **2009**,
 909 *11* (10), 1042–1053. <https://doi.org/10.1593/neo.09760>.
- 910 (103) Campbell, K. R.; Chaudhary, R.; Montano, M.; Iozzo, R. V.; Bushman, W. A.;
 911 Campagnola, P. J. Second-Harmonic Generation Microscopy Analysis Reveals Proteoglycan
 912 Decorin Is Necessary for Proper Collagen Organization in Prostate. *J Biomed Opt* **2019**, *24*
 913 (06), 1. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.24.6.066501>.
- 914 (104) Pfeiffer, J. R.; McAvoy, B. L.; Fecteau, R. E.; Deleault, K. M.; Brooks, S. A.
 915 CARHSP1 Is Required for Effective Tumor Necrosis Factor Alpha mRNA Stabilization and
 916 Localizes to Processing Bodies and Exosomes. *Mol Cell Biol* **2011**, *31* (2), 277–286.
 917 <https://doi.org/10.1128/MCB.00775-10>.

- 918 (105) Hou, H.; Wang, F.; Zhang, W.; Wang, D.; Li, X.; Bartlam, M.; Yao, X.; Rao, Z.
 919 Structure-Functional Analyses of CRHSP-24 Plasticity and Dynamics in Oxidative Stress
 920 Response. *Journal of Biological Chemistry* **2011**, 286 (11), 9623–9635.
 921 <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.177436>.
- 922 (106) Groblewski, G. E.; Yoshida, M.; Bragado, M. J.; Ernst, S. A.; Leykam, J.; Williams,
 923 J. A. Purification and Characterization of a Novel Physiological Substrate for Calcineurin in
 924 Mammalian Cells. *Journal of Biological Chemistry* **1998**, 273 (35), 22738–22744.
 925 <https://doi.org/10.1074/jbc.273.35.22738>.
- 926 (107) Feske, S.; Wulff, H.; Skolnik, E. Y. Ion Channels in Innate and Adaptive Immunity.
 927 *Annu Rev Immunol* **2015**, 33 (1), 291–353. [https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-](https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112212)
 928 [032414-112212](https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112212).
- 929 (108) Lallet-Daher, H.; Roudbaraki, M.; Bavencoffe, A.; Mariot, P.; Gackière, F.; Bidaux,
 930 G.; Urbain, R.; Gosset, P.; Delcourt, P.; Fleurisse, L.; Slomianny, C.; Dewailly, E.; Mauroy,
 931 B.; Bonnal, J. L.; Skryma, R.; Prevarskaya, N. Intermediate-Conductance Ca²⁺-Activated
 932 K⁺ Channels (IKCa1) Regulate Human Prostate Cancer Cell Proliferation through a Close
 933 Control of Calcium Entry. *Oncogene* **2009**, 28 (15), 1792–1806.
 934 <https://doi.org/10.1038/onc.2009.25>.
- 935 (109) Weaver, E. M.; Zamora, F. J.; Puplampu-Dove, Y. A.; Kiessu, E.; Hearne, J. L.;
 936 Martin-Caraballo, M. Regulation of T-Type Calcium Channel Expression by Sodium
 937 Butyrate in Prostate Cancer Cells. *Eur J Pharmacol* **2015**, 749, 20–31.
 938 <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.12.021>.
- 939 (110) An, T.; Zhang, J.; Ma, Y.; Lian, J.; Wu, Y.-X.; Lv, B.-H.; Ma, M.-H.; Meng, J.-H.;
 940 Zhou, Y.-T.; Zhang, Z.-Y.; Liu, Q.; Gao, S.-H.; Jiang, G.-J. Relationships of Non-Coding
 941 RNA with Diabetes and Depression. *Sci Rep* **2019**, 9 (1), 10707.
 942 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47077-9>.
- 943 (111) Fan, Y.; Guo, Y.; Hamblin, M.; Chang, L.; Zhang, J.; Chen, Y. E. Inhibition of
 944 Gluconeogenic Genes by Calcium-Regulated Heat-Stable Protein 1 via Repression of
 945 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α . *Journal of Biological Chemistry* **2011**, 286
 946 (47), 40584–40594. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.232918>.
- 947 (112) Blochberger, T. C.; Vergnes, J. P.; Hempel, J.; Hassell, J. R. CDNA to Chick Lumican
 948 (Corneal Keratan Sulfate Proteoglycan) Reveals Homology to the Small Interstitial
 949 Proteoglycan Gene Family and Expression in Muscle and Intestine. *J Biol Chem* **1992**, 267
 950 (1), 347–352.

- 951 (113) Holland, J. W.; Meehan, K. L.; Redmond, S. L.; Dawkins, H. J. S. Purification of the
 952 Keratan Sulfate Proteoglycan Expressed in Prostatic Secretory Cells and Its Identification as
 953 Lumican. *Prostate* **2004**, *59* (3), 252–259. <https://doi.org/10.1002/pros.20002>.
- 954 (114) Guzmán-Ruiz, R.; Tercero-Alcázar, C.; Rabanal-Ruiz, Y.; Díaz-Ruiz, A.; El Bekay,
 955 R.; Rangel-Zuñiga, O. A.; Navarro-Ruiz, M. C.; Molero, L.; Membrives, A.; Ruiz-Rabelo,
 956 J. F.; Pandit, A.; López-Miranda, J.; Tinahones, F. J.; Malagón, M. M. Adipose Tissue Depot-
 957 specific Intracellular and Extracellular Cues Contributing to Insulin Resistance in Obese
 958 Individuals. *The FASEB Journal* **2020**, *34* (6), 7520–7539.
 959 <https://doi.org/10.1096/fj.201902703R>.
- 960 (115) Wolff, G.; Taranko, A. E.; Meln, I.; Weinmann, J.; Sijmonsma, T.; Lerch, S.; Heide,
 961 D.; Billeter, A. T.; Tews, D.; Kronic, D.; Fischer-Posovszky, P.; Müller-Stich, B. P.; Herzig,
 962 S.; Grimm, D.; Heikenwälder, M.; Kao, W. W.; Vegiopoulos, A. Diet-Dependent Function of
 963 the Extracellular Matrix Proteoglycan Lumican in Obesity and Glucose Homeostasis. *Mol*
 964 *Metab* **2019**, *19*, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.10.007>.
- 965 (116) Liu, J.; Yin, G.; Hu, K.; Huang, H.; Xu, F.; Yang, Y.; Chen, F. Parental Uveitis Causes
 966 Elevated Hair Loss in Offspring of C57BL/6J Mice. *Exp Eye Res* **2022**, *219*, 109056.
 967 <https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109056>.
- 968 (117) Singh, R.; Sengar, G.; Singh, U.; Deb, R.; Junghare, V.; Hazra, S.; Kumar, S.; Tyagi,
 969 S.; Das, A.; Raja, T.; Kumar, A. Functional Proteomic Analysis of Crossbred (Holstein
 970 Friesian × Sahiwal) Bull Spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals* **2018**, *53* (3),
 971 588–608. <https://doi.org/10.1111/rda.13146>.
- 972 (118) Tan, Z.; Gao, L.; Wang, Y.; Yin, H.; Xi, Y.; Wu, X.; Shao, Y.; Qiu, W.; Du, P.; Shen,
 973 W.; Fu, L.; Jia, R.; Zhao, C.; Zhang, Y.; Zhao, Z.; Sun, Z.; Chen, H.; Hu, X.; Xu, J.; Wang,
 974 Y. PRSS Contributes to Cetuximab Resistance in Colorectal Cancer. *Sci Adv* **2020**, *6* (1).
 975 <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax5576>.
- 976 (119) Ohmuraya, M.; Sugano, A.; Hirota, M.; Takaoka, Y.; Yamamura, K. Role of
 977 Intrapancreatic SPINK1/Spink3 Expression in the Development of Pancreatitis. *Front*
 978 *Physiol* **2012**, *3*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00126>.
- 979 (120) Smyth, S. P.; Nixon, B.; Anderson, A. L.; Murray, H. C.; Martin, J. H.; MacDougall,
 980 L. A.; Robertson, S. A.; Skerrett-Byrne, D. A.; Schjenken, J. E. Elucidation of the Protein
 981 Composition of Mouse Seminal Vesicle Fluid. *Proteomics* **2022**, *22* (9).
 982 <https://doi.org/10.1002/pmic.202100227>.

- 983 (121) Peng, Q.; Yang, H.; Xue, S.; Shi, L.; Yu, Q.; Kuang, Y. Secretome Profile of Mouse
984 Oocytes after Activation Using Mass Spectrum. *J Assist Reprod Genet* **2012**, *29* (8), 765–
985 771. <https://doi.org/10.1007/s10815-012-9789-8>.
- 986 (122) Mcgee, R. S.; Herr, J. C. Human Seminal Vesicle-Specific Antigen Is a Substrate for
987 Prostate-Specific Antigen (or P-30)1. *Biol Reprod* **1988**, *39* (2), 499–510.
988 <https://doi.org/10.1095/biolreprod39.2.499>.
- 989 (123) Anamthathmakula, P.; Erickson, J. A.; Winuthayanon, W. Blocking Serine Protease
990 Activity Prevents Semenogelin Degradation Leading to Hyperviscous Semen in Humans.
991 *Biol Reprod* **2022**, *106* (5), 879–887. <https://doi.org/10.1093/biolre/iaac023>.
- 992 (124) Elango, K.; Karuthadurai, T.; Kumaresan, A.; Sinha, M. K.; Ebenezer Samuel King,
993 J. P.; Nag, P.; Sharma, A.; Raval, K.; Paul, N.; Talluri, T. R. High-Throughput Proteomic
994 Characterization of Seminal Plasma from Bulls with Contrasting Semen Quality. *3 Biotech*
995 **2023**, *13* (2), 60. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03474-6>.
- 996 (125) Xu, X.; Wang, Y.; Chen, J.; Du, X.; Yao, L.; Xu, J.; Zhang, Y.; Huang, Y.; Wang, Y.
997 Mutation of Serine Protease 1 Induces Male Sterility in Bombyx Mori. *Front Physiol* **2022**,
998 *13*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.828859>.
- 999 (126) Rakhra, G.; Rakhra, G. Zinc Finger Proteins: Insights into the Transcriptional and
1000 Post Transcriptional Regulation of Immune Response. *Mol Biol Rep* **2021**, *48* (7), 5735–
1001 5743. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06556-x>.
- 1002 (127) Zhang, L.; Qin, Y.; Gong, X.; Peng, R.; Cai, C.; Zheng, Y.; Du, Y.; Wang, H. A
1003 Promoter Variant in ZNF804A Decreasing Its Expression Increases the Risk of Autism
1004 Spectrum Disorder in the Han Chinese Population. *Transl Psychiatry* **2019**, *9* (1), 31.
1005 <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0369-x>.
- 1006 (128) Yan, Z.; Zhou, Y.; Yang, Y.; Zeng, C.; Li, P.; Tian, H.; Tang, X.; Zhang, G. Zinc Finger
1007 Protein 384 Enhances Colorectal Cancer Metastasis by Upregulating MMP2. *Oncol Rep*
1008 **2022**, *47* (3), 49. <https://doi.org/10.3892/or.2022.8260>.
- 1009 (129) Powell, M. D.; Read, K. A.; Sreekumar, B. K.; Oestreich, K. J. Ikaros Zinc Finger
1010 Transcription Factors: Regulators of Cytokine Signaling Pathways and CD4+ T Helper Cell
1011 Differentiation. *Front Immunol* **2019**, *10*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01299>.
- 1012 (130) Ul Hassan, I.; Mamoon Rehman, H.; Liu, Z.; Zhou, L.; Kaleem Samma, M.; Wang,
1013 C.; Rong, Z.; Qi, X.; Cai, D.; Zhao, H. Genome-Wide Identification and Spatiotemporal
1014 Expression Profiling of Zinc Finger SWIM Domain-Containing Protein Family Genes. *Zool*
1015 *Res* **2023**, *44* (3), 663–674. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2022.418>.

- 1016 (131) Mi, K.; Chen, Y.; Lizhong, Z.; Shuanying, Y. RNA-Binding Protein ZC3H18
 1017 Enhances Cell Proliferation and Metastasis in Lung Adenocarcinoma. *Mol Biol Rep* **2023**, *1*,
 1018 1–19. <https://doi.org/https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2783463/v1>.
- 1019 (132) Shi, C. Y.; Kingston, E. R.; Kleaveland, B.; Lin, D. H.; Stubna, M. W.; Bartel, D. P.
 1020 The ZSWIM8 Ubiquitin Ligase Mediates Target-Directed MicroRNA Degradation. *Science*
 1021 (1979) **2020**, *370* (6523). <https://doi.org/10.1126/science.abc9359>.
- 1022 (133) Saeedi Borujeni, M. J.; Esfandiary, E.; Baradaran, A.; Valiani, A.; Ghanadian, M.;
 1023 Codoñer-Franch, P.; Basirat, R.; Alonso-Iglesias, E.; Mirzaei, H.; Yazdani, A. Molecular
 1024 Aspects of Pancreatic B-cell Dysfunction: Oxidative Stress, MicroRNA, and Long
 1025 Noncoding RNA. *J Cell Physiol* **2019**, *234* (6), 8411–8425.
 1026 <https://doi.org/10.1002/jcp.27755>.
- 1027 (134) Truebestein, L.; Leonard, T. A. Coiled-coils: The Long and Short of It. *BioEssays*
 1028 **2016**, *38* (9), 903–916. <https://doi.org/10.1002/bies.201600062>.
- 1029 (135) Zhang, C.; Kho, Y.-S.; Wang, Z.; Chiang, Y. T.; Ng, G. K. H.; Shaw, P.-C.; Wang, Y.;
 1030 Qi, R. Z. Transmembrane and Coiled-Coil Domain Family 1 Is a Novel Protein of the
 1031 Endoplasmic Reticulum. *PLoS One* **2014**, *9* (1), e85206.
 1032 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085206>.
- 1033 (136) Lin, S.-R.; Li, Y.-C.; Luo, M.-L.; Guo, H.; Wang, T.-T.; Chen, J.-B.; Ma, Q.; Gu, Y.-
 1034 L.; Jiang, Z.-M.; Gui, Y.-T. Identification and Characteristics of the Testes-Specific Gene,
 1035 Ccdc38, in Mice. *Mol Med Rep* **2016**, *14* (2), 1290–1296.
 1036 <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5360>.
- 1037 (137) Ge, T.; Yuan, L.; Xu, L.; Yang, F.; Xu, W.; Niu, C.; Li, G.; Zhou, H.; Zheng, Y. Coiled-
 1038 Coil Domain Containing 159 (CCDC159) Is Required for Spermatid Head and Tail
 1039 Assembly in Mice. *Biol Reprod* **2024**. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioae012>.
- 1040 (138) Wang, M.; Liu, X.; Chang, G.; Chen, Y.; An, G.; Yan, L.; Gao, S.; Xu, Y.; Cui, Y.;
 1041 Dong, J.; Chen, Y.; Fan, X.; Hu, Y.; Song, K.; Zhu, X.; Gao, Y.; Yao, Z.; Bian, S.; Hou, Y.;
 1042 Lu, J.; Wang, R.; Fan, Y.; Lian, Y.; Tang, W.; Wang, Y.; Liu, J.; Zhao, L.; Wang, L.; Liu, Z.;
 1043 Yuan, R.; Shi, Y.; Hu, B.; Ren, X.; Tang, F.; Zhao, X.-Y.; Qiao, J. Single-Cell RNA
 1044 Sequencing Analysis Reveals Sequential Cell Fate Transition during Human
 1045 Spermatogenesis. *Cell Stem Cell* **2018**, *23* (4), 599–614.e4.
 1046 <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.08.007>.
- 1047 (139) Sha, Y.; Xu, Y.; Wei, X.; Liu, W.; Mei, L.; Lin, S.; Ji, Z.; Wang, X.; Su, Z.; Qiu, P.;
 1048 Chen, J.; Wang, X. CCDC9 Is Identified as a Novel Candidate Gene of Severe

- 1049 Asthenozoospermia. *Syst Biol Reprod Med* **2019**, 65 (6), 465–473.
 1050 <https://doi.org/10.1080/19396368.2019.1655812>.
- 1051 (140) Wu, H.; Liu, Y.; Li, Y.; Li, K.; Xu, C.; Gao, Y.; Lv, M.; Guo, R.; Xu, Y.; Zhou, P.;
 1052 Wei, Z.; Hua, R.; He, X.; Cao, Y. DNALI1 Deficiency Causes Male Infertility with Severe
 1053 Asthenozoospermia in Humans and Mice by Disrupting the Assembly of the Flagellar Inner
 1054 Dynein Arms and Fibrous Sheath. *Cell Death Dis* **2023**, 14 (2), 127.
 1055 <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05653-y>.
- 1056 (141) Yamaguchi, A.; Kaneko, T.; Inai, T.; Iida, H. Molecular Cloning and Subcellular
 1057 Localization of Tektin2-Binding Protein 1 (Ccdc 172) in Rat Spermatozoa. *Journal of*
 1058 *Histochemistry & Cytochemistry* **2014**, 62 (4), 286–297.
 1059 <https://doi.org/10.1369/0022155413520607>.
- 1060 (142) Iso-Touru, T.; Wurmser, C.; Venhoranta, H.; Hiltpold, M.; Savolainen, T.; Sironen,
 1061 A.; Fischer, K.; Flisikowski, K.; Fries, R.; Vicente-Carrillo, A.; Alvarez-Rodriguez, M.;
 1062 Nagy, S.; Mutikainen, M.; Peippo, J.; Taponen, J.; Sahana, G.; Guldbrandtsen, B.; Simonen,
 1063 H.; Rodriguez-Martinez, H.; Andersson, M.; Pausch, H. A Splice Donor Variant in
 1064 CCDC189 Is Associated with Asthenospermia in Nordic Red Dairy Cattle. *BMC Genomics*
 1065 **2019**, 20 (1), 286. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5628-y>.
- 1066 (143) *The Human Protein Atlas*. Coiled-coil domain containing 175 . The Human Protein
 1067 Atlas (accessed 2024-02-06).
- 1068 (144) Lu, C.-H.; Lee, R. K.-K.; Hwu, Y.-M.; Chu, S.-L.; Chen, Y.-J.; Chang, W.-C.; Lin,
 1069 S.-P.; Li, S.-H. SERPINE2, a Serine Protease Inhibitor Extensively Expressed in Adult Male
 1070 Mouse Reproductive Tissues, May Serve as a Murine Sperm Decapacitation Factor1. *Biol*
 1071 *Reprod* **2011**, 84 (3), 514–525. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.085100>.
- 1072 (145) Murer, V.; Spetz, J. F.; Hengst, U.; Altrogge, L. M.; de Agostini, A.; Monard, D. Male
 1073 Fertility Defects in Mice Lacking the Serine Protease Inhibitor Protease Nexin-1.
 1074 *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2001**, 98 (6), 3029–3033.
 1075 <https://doi.org/10.1073/pnas.051630698>.
- 1076 (146) Heutinck, K. M.; ten Berge, I. J. M.; Hack, C. E.; Hamann, J.; Rowshani, A. T. Serine
 1077 Proteases of the Human Immune System in Health and Disease. *Mol Immunol* **2010**, 47 (11–
 1078 12), 1943–1955. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2010.04.020>.
- 1079 (147) Turunen, T.; Magris, M.; Malinen, M.; Kekäläinen, J. Seminal-Plasma-Mediated
 1080 Effects on Sperm Performance in Humans. *Cells* **2022**, 11 (14), 2147.
 1081 <https://doi.org/10.3390/cells11142147>.

- 1082 (148) Rego, J. P. A.; Crisp, J. M.; Moura, A. A.; Nouwens, A. S.; Li, Y.; Venus, B.; Corbet,
1083 N. J.; Corbet, D. H.; Burns, B. M.; Boe-Hansen, G. B.; McGowan, M. R. Seminal Plasma
1084 Proteome of Electroejaculated Bos Indicus Bulls. *Anim Reprod Sci* **2014**, *148* (1–2), 1–17.
1085 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.04.016>.
- 1086 (149) Sharma, R.; Agarwal, A.; Mohanty, G.; Du Plessis, S. S.; Gopalan, B.; Willard, B.;
1087 Yadav, S. P.; Sabanegh, E. Proteomic Analysis of Seminal Fluid from Men Exhibiting
1088 Oxidative Stress. *Reproductive Biology and Endocrinology* **2013**, *11* (1), 85.
1089 <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-85>.
- 1090 (150) Yeung, W. S. B.; Lee, K.-F.; Koistinen, R.; Koistinen, H.; Seppälä, M.; Chiu, P. C. N.
1091 Effects of Glycodelins on Functional Competence of Spermatozoa. *J Reprod Immunol* **2009**,
1092 *83* (1–2), 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.04.012>.
- 1093 (151) Chiu, P. C. N.; Chung, M.-K.; Tsang, H.-Y.; Koistinen, R.; Koistinen, H.; Seppala,
1094 M.; Lee, K.-F.; Yeung, W. S. B. Glycodelin-S in Human Seminal Plasma Reduces
1095 Cholesterol Efflux AndInhibits Capacitation OfSpermatozoa. *Journal of Biological*
1096 *Chemistry* **2005**, *280* (27), 25580–25589. <https://doi.org/10.1074/jbc.M504103200>.
- 1097 (152) Bezerra, M. J. B.; Arruda-Alencar, J. M.; Martins, J. A. M.; Viana, A. G. A.; Viana
1098 Neto, A. M.; Rêgo, J. P. A.; Oliveira, R. V.; Lobo, M.; Moreira, A. C. O.; Moreira, R. A.;
1099 Moura, A. A. Major Seminal Plasma Proteome of Rabbits and Associations with Sperm
1100 Quality. *Theriogenology* **2019**, *128*, 156–166.
1101 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.01.013>.
- 1102 (153) Mogielnicka-Brzozowska, M.; Fraser, L.; Dziekońska, A.; Gackowska, K.;
1103 Sobiewska, M.; Kuzborska, A.; Majewska, A. M.; Filipowicz, K.; Kordan, W. Identification
1104 of Proteoforms of Albumin and Kallikrein in Stallion Seminal Plasma and Their Correlations
1105 with Sperm Motility. *Pol J Vet Sci* **2019**, 227–227.
1106 <https://doi.org/10.24425/pjvs.2019.127090>.
- 1107 (154) Umar, S.; Ahmad, M.; Ahmad, I.; Zubair, M.; Umar, Z.; Qureshi, A. S.; Manzoor, A.;
1108 Murtaza, A.; Shaukat, A. Correlation of Biochemical Constituents of Seminal Plasma with
1109 Semen Quality in Teddy Goat (*Capra Hircus*) Bucks. *Andrologia* **2018**, *50* (3), e12940.
1110 <https://doi.org/10.1111/and.12940>.
- 1111 (155) Parte, P. P.; Rao, P.; Redij, S.; Lobo, V.; D’Souza, S. J.; Gajbhiye, R.; Kulkarni, V.
1112 Sperm Phosphoproteome Profiling by Ultra Performance Liquid Chromatography Followed
1113 by Data Independent Analysis (LC–MSE) Reveals Altered Proteomic Signatures in
1114 Asthenozoospermia. *J Proteomics* **2012**, *75* (18), 5861–5871.
1115 <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.07.003>.

- 1116 (156) Park, Y.-J.; Pang, M.-G. Mitochondrial Functionality in Male Fertility: From
 1117 Spermatogenesis to Fertilization. *Antioxidants* **2021**, *10* (1), 98.
 1118 <https://doi.org/10.3390/antiox10010098>.
- 1119 (157) Pilatz, A.; Lochnit, G.; Karnati, S.; Paradowska-Dogan, A.; Lang, T.; Schultheiss, D.;
 1120 Schuppe, H.-C.; Hossain, H.; Baumgart-Vogt, E.; Weidner, W.; Wagenlehner, F. Acute
 1121 Epididymitis Induces Alterations in Sperm Protein Composition. *Fertil Steril* **2014**, *101* (6),
 1122 1609–1617.e5. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.03.011>.
- 1123 (158) de Mateo, S.; Castillo, J.; Estanyol, J. M.; Ballescà, J. L.; Oliva, R. Proteomic
 1124 Characterization of the Human Sperm Nucleus. *Proteomics* **2011**, *11* (13), 2714–2726.
 1125 <https://doi.org/10.1002/pmic.201000799>.
- 1126 (159) Ficarro, S.; Chertihin, O.; Westbrook, V. A.; White, F.; Jayes, F.; Kalab, P.; Marto, J.
 1127 A.; Shabanowitz, J.; Herr, J. C.; Hunt, D. F.; Visconti, P. E. Phosphoproteome Analysis of
 1128 Capacitated Human Sperm. *Journal of Biological Chemistry* **2003**, *278* (13), 11579–11589.
 1129 <https://doi.org/10.1074/jbc.M202325200>.
- 1130 (160) Pérez-Patiño, C.; Parrilla, I.; Barranco, I.; Vergara-Barberán, M.; Simó-Alfonso, E.
 1131 F.; Herrero-Martínez, J. M.; Rodríguez-Martínez, H.; Martínez, E. A.; Roca, J. New In-Depth
 1132 Analytical Approach of the Porcine Seminal Plasma Proteome Reveals Potential Fertility
 1133 Biomarkers. *J Proteome Res* **2018**, *17* (3), 1065–1076.
 1134 <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00728>.
- 1135 (161) Rusco, G.; Słowińska, M.; Di Iorio, M.; Cerolini, S.; Maffione, A. B.; Ciereszko, A.;
 1136 Iaffaldano, N. Proteomic Analysis of Rabbit Fresh and Cryopreserved Semen Provides an
 1137 Important Insight into Molecular Mechanisms of Cryoinjuries to Spermatozoa.
 1138 *Theriogenology* **2022**, *191*, 77–95. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.07.018>.
- 1139

PROTEÔMICA DO TECIDO PROSTÁTICO E DO FLUIDO DA VESÍCULA SEMINAL DE RATOS OBESOS E DIABÉTICOS

Marcos G. Carvalho†, Gabriela C. Sousa† e Fabiana F. Souza*†

SUPPORTING INFORMATION FIGURES

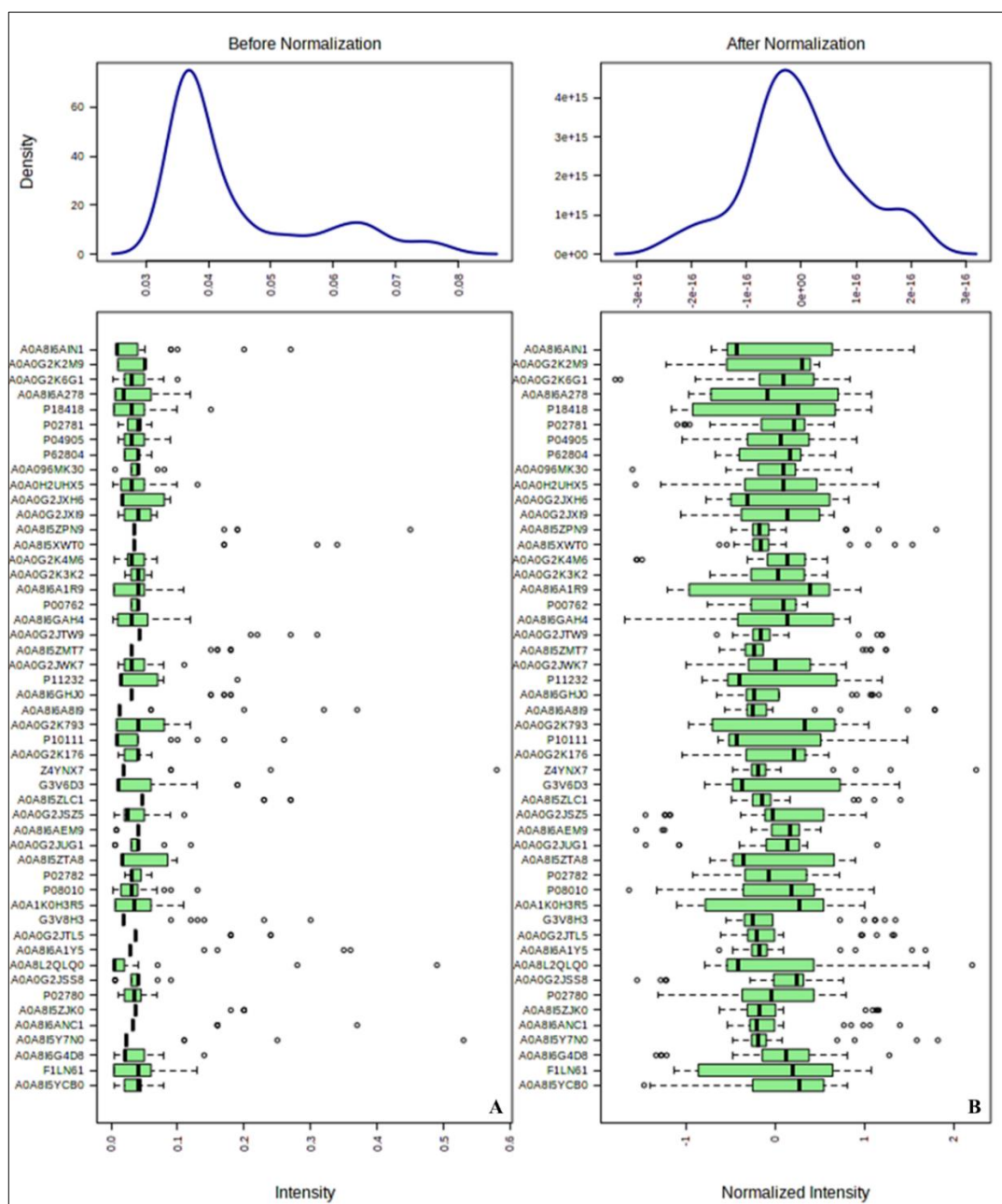


Figura S1. Normalização dos dados obtidos da próstata de ratos controle, diabéticos e obesos (*Normalization to constant sum; Data transformation: Log10 Normalization; Data scaling: Range Scaling*). Dados não-normalizados (A) e dados normalizados (B).

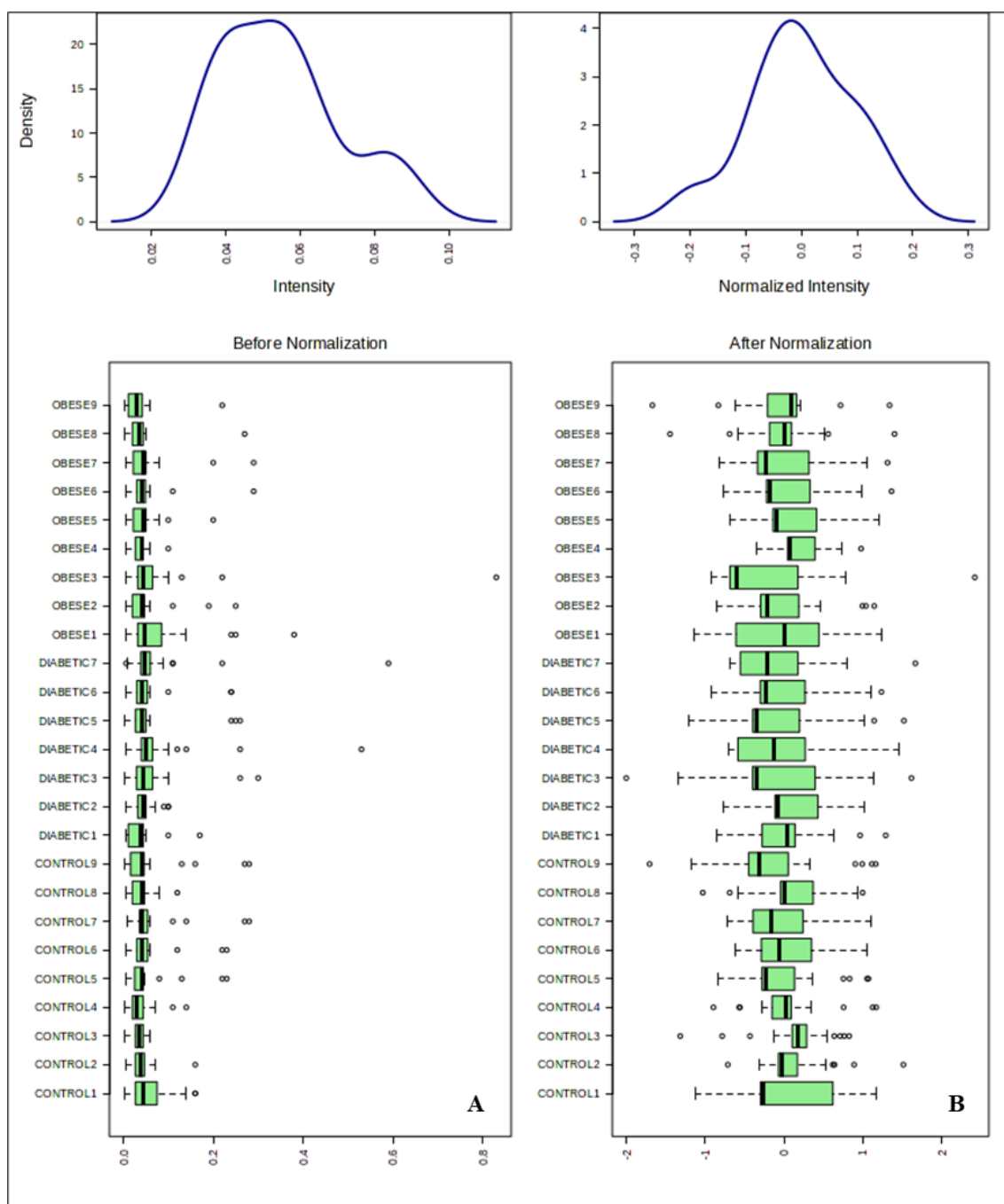


Figura S2. Normalização dos dados obtidos do fluido da vesícula seminal de ratos controle, diabéticos e obesos (*Normalization to constant sum; Data transformation: Log10 Normalization; Data scaling: Range Scaling.*). Dados não-normalizados (A) e dados normalizados (B).

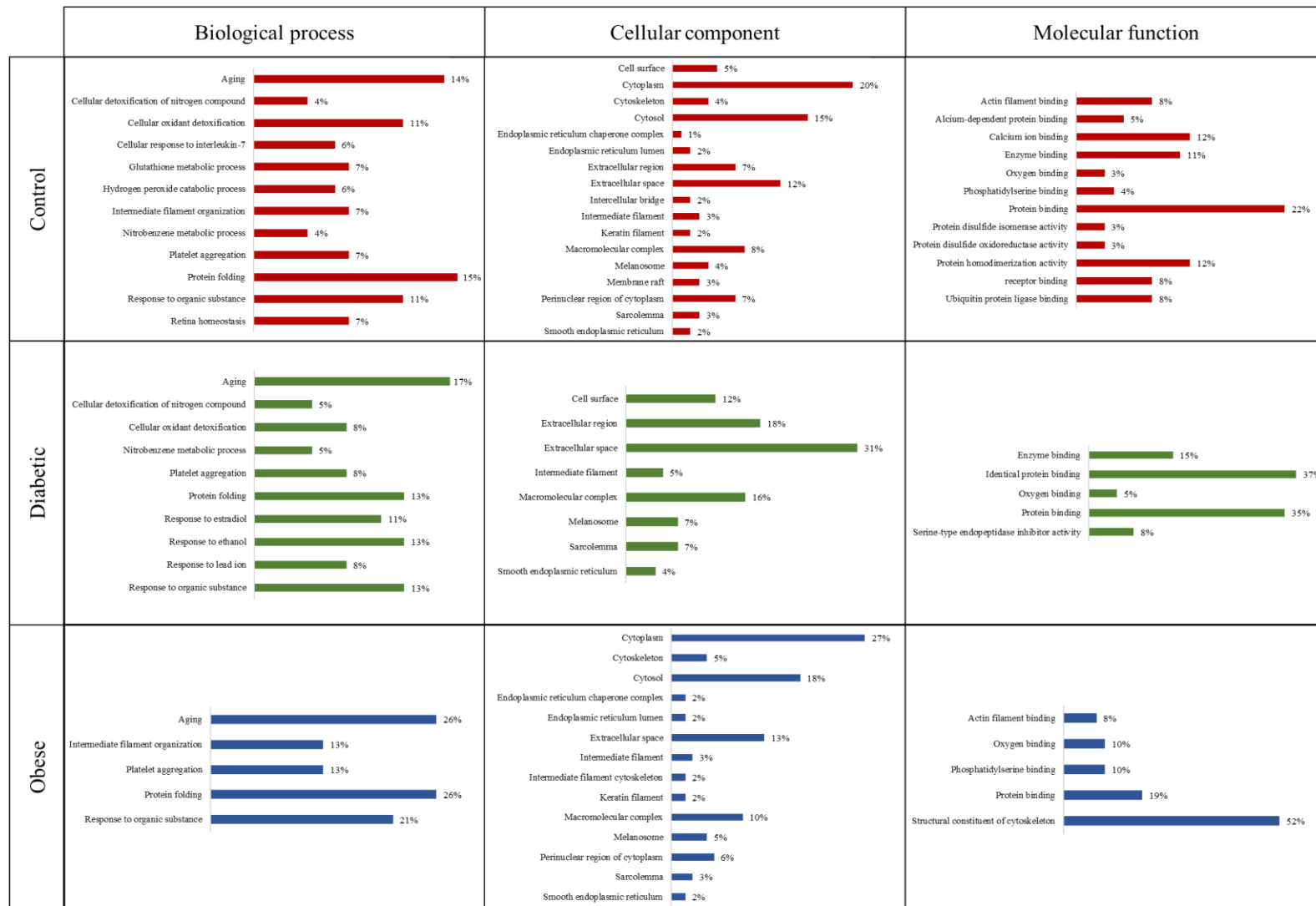


Figure S3. Gene ontology from prostate tissue from rats in the groups (control, diabetic and obese) considering biological process, Cellular component and molecular function.

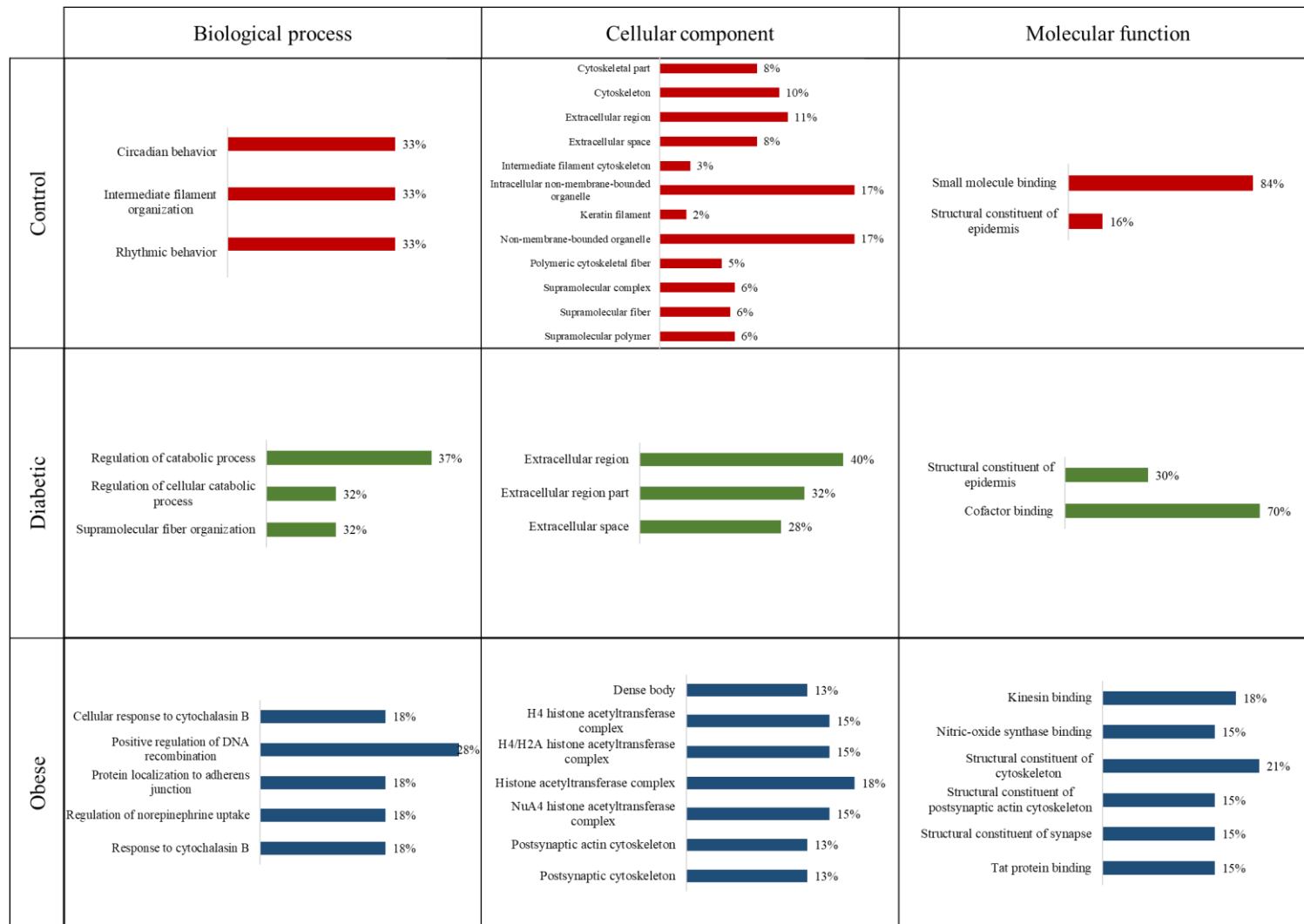


Figure S4. Gene ontology from seminal vesicle fluid from rats in the groups (control, diabetic and obese) considering biological process, Cellular component and molecular function.

SUPPORTING INFORMATION TABLES

Supplemental Table 1. Comparação das proteínas identificadas no tecido prostáticos de ratos obesos e diabéticos versus grupo controle, pela curva ROC (AUC > 0,80 e P < 0,05), com as do teste ANOVA, utilizando o teste de Fisher LSD, quando *false discovery rate* (FDR) foi < 0,01.

Curva ROC	ANOVA	ANOVA + Curva ROC
*Calcium regulated heat stable protein 1	78 kDa glucose-regulated protein	78 kDa glucose-regulated protein
78 kDa glucose-regulated protein	*ADP-ribosylation factor	Calcium regulated heat stable protein 1
Calcium regulated heat stable protein 1	Annexin	Calreticulin
Calreticulin	Calcium regulated heat stable protein 1	Carbonyl reductase [NADPH] 3
Carbonyl reductase [NADPH] 3	Calreticulin	Cystatin-related protein 2
Cystatin-related protein 2	Carbonyl reductase [NADPH] 3	Decorin
Decorin	Cystatin-related protein 1	Heat shock protein family A (Hsp70) member 8
Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1	Cystatin-related protein 2	Heat shock protein HSP 90-beta
Heat shock protein family A (Hsp70) member 8	Decorin	*Keratin 73
Heat shock protein HSP 90-beta	Desmin	*Lumican
Histone H4	Glutathione S-transferase mu 2	Peroxiredoxin-5
*Keratin 73	Heat shock protein family A (Hsp70) member 8	Probasin
*Lumican	Heat shock protein HSP 90-beta	Proline rich protein 2-like 1
Moesin	*Keratin 73	Prostatic steroid-binding protein C2
Peroxiredoxin-5	*Lumican	Protein disulfide-isomerase
Probasin	*Nucleobindin 2	Serine protease 1
*Proline rich protein 2-like 1	*Peroxiredoxin 2	Thioredoxin
Proline rich protein 2-like 1	Peroxiredoxin-5	

Prostatic steroid-binding protein C2	Probasin	
Protein disulfide-isomerase	Proline rich protein 2-like 1	
Secretoglobin family 2A member 2	Prostatic steroid-binding protein C2	
Serine protease 1	Protein disulfide-isomerase	
Thioredoxin	Protein disulfide-isomerase A6	
	*Pyruvate carboxylase	
	Serine protease 1	
	Thioredoxin	

1166

* identificadas nos obesos.

1167 **Supplemental Table 2.**1168 Gene ontology of proteins extracted from prostate tissue of rats. Data obtained of UniprotKB (www.uniprot.org).

Protein Name	ID	Gene	Gene Ontology		
			Biological Process	Cellular Component	Molecular Function
14-3-3 protein epsilon/ Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, epsilon	A0A815ZSP3	Ywhae		cytoplasm [GO:0005737]	
14-3-3 protein zeta/delta/ Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, zeta	A0A0G2JV65	Ywhaz	angiogenesis [GO:0001525]; ERK1 and ERK2 cascade [GO:0070371]; establishment of Golgi localization [GO:0051683]; Golgi reassembly [GO:0090168]; lung development [GO:0030324]; negative regulation of innate immune response [GO:0045824]; negative regulation of protein localization to nucleus [GO:1900181]; negative regulation of transcription by RNA	cytosol [GO:0005829]; glutamatergic synapse [GO:0098978]; hippocampal mossy fiber to CA3 synapse [GO:0098686]; nucleus [GO:0005634]	DNA-binding transcription factor binding [GO:0140297]; identical protein binding [GO:0042802]; phosphoserine residue binding [GO:0050815]; protein domain specific binding [GO:0019904]; protein kinase binding [GO:0019901]; protein sequestering activity [GO:0140311]; transmembrane transporter binding [GO:0044325]; ubiquitin protein ligase binding [GO:0031625]

			polymerase II [GO:0000122]; protein phosphorylation [GO:0006468]; protein targeting [GO:0006605]; regulation of ERK1 and ERK2 cascade [GO:0070372]; regulation of programmed cell death [GO:0043067]; regulation of synapse maturation [GO:0090128]; respiratory system process [GO:0003016]; synaptic target recognition [GO:0008039]; tube formation [GO:0035148]		
3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) (EC 1.1.1.34)	A0A8I6A6Z9	Hmgcr	cholesterol biosynthetic process [GO:0006695]; coenzyme A metabolic process [GO:0015936]; isoprenoid biosynthetic process [GO:0008299]	endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; peroxisomal membrane [GO:0005778]	hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH) activity [GO:0004420]; NADP binding [GO:0050661]
5-aminolevulinate synthase (EC	A0A0G2JYY2	Alas1	protoporphyrinogen IX	mitochondrial inner	5-aminolevulinate synthase

2.3.1.37) (5-aminolevulinic acid synthase) (Delta-ALA synthase) (Delta-aminolevulinate synthase)			biosynthetic process [GO:0006782]	membrane [GO:0005743]; mitochondrial matrix [GO:0005759]	activity [GO:0003870]; pyridoxal phosphate binding [GO:0030170]
60S Ribosomal protein L26	G3V6I9	Rpl26	translation [GO:0006412]	large ribosomal subunit [GO:0015934]	RNA binding [GO:0003723]; structural constituent of ribosome [GO:0003735]
Actin, aortic smooth muscle	A0A0G2K4M6	Acta2	glomerular mesangial cell development [GO:0072144]; regulation of blood pressure [GO:0008217]; response to virus [GO:0009615]; vascular associated smooth muscle contraction [GO:0014829]	actin cytoskeleton [GO:0015629]; motile cilium [GO:0031514]; protein-containing complex [GO:0032991]; smooth muscle contractile fiber [GO:0030485]	protein kinase binding [GO:0019901]
Actin, beta	A0A0G2K3K2	Actb			
Actin, gamma-enteric smooth muscle (EC 3.6.4.-) (Alpha-actin-3) (Gamma-2-actin) (Smooth muscle gamma-actin) [Cleaved into: Actin, gamma-enteric smooth muscle, intermediate form]	P63269	Actg2 Acta3 Actsg	mesenchyme migration [GO:0090131]; positive regulation of gene expression [GO:0010628]	cell body [GO:0044297]; cell periphery [GO:0071944]; cytoplasm [GO:0005737]; cytoskeleton [GO:0005856]; filopodium	ATP binding [GO:0005524]; hydrolase activity [GO:0016787]

				[GO:0030175]; lamellipodium [GO:0030027]; myosin filament [GO:0032982]	
Acyl-CoA dehydrogenase family, member 10	F1LN88	Aldh2 Acad10	fatty acid beta- oxidation using acyl- CoA dehydrogenase [GO:0033539]	cytoplasm [GO:0005737]	acyl-CoA dehydrogenase activity [GO:0003995]; oxidoreductase activity, acting on the aldehyde or oxo group of donors, NAD or NADP as acceptor [GO:0016620]
Adenylate cyclase type 6 (EC 4.6.1.1)	A0A0G2K429	Adcy6	cAMP biosynthetic process [GO:0006171]; intracellular signal transduction [GO:0035556]	plasma membrane [GO:0005886]	adenylate cyclase activity [GO:0004016]; ATP binding [GO:0005524]; metal ion binding [GO:0046872]
ADP-ribosylation factor 3 (Liver regeneration-related protein LRRG202)	P61206	Arf3 Ac1-253	intracellular protein transport [GO:0006886]; retrograde vesicle- mediated transport, Golgi to endoplasmic reticulum [GO:0006890]; vesicle- mediated transport [GO:0016192]	Golgi apparatus [GO:0005794]; perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]; plasma membrane [GO:0005886]	GTP binding [GO:0005525]; GTPase activity [GO:0003924]
ADP-ribosylation factor	A0A8I5ZJK0	Arf4	protein transport [GO:0015031]; vesicle- mediated transport [GO:0016192]	Golgi apparatus [GO:0005794]	GTP binding [GO:0005525]; GTPase activity [GO:0003924]

Albumin	A0A0G2JSH5; P02770	Alb		extracellular space [GO:0005615]	metal ion binding [GO:0046872]
Alpha-(1,3)-fucosyltransferase (EC 2.4.1.-)	M0R8J2	Fut10 fut10	cerebral cortex radially oriented cell migration [GO:0021799]; N-glycan fucosylation [GO:0036071]; neuroblast migration [GO:0097402]; neuronal stem cell division [GO:0036445]; neuronal stem cell population maintenance [GO:0097150]; oligosaccharide biosynthetic process [GO:0009312]; protein glycosylation [GO:0006486]	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; Golgi cisterna membrane [GO:0032580]; Golgi membrane [GO:0000139]; nucleoplasm [GO:0005654]	alpha-(1->3)-fucosyltransferase activity [GO:0046920]
alpha-1,6-mannosyl-glycoprotein 6-beta-N-acetylglucosaminyltransferase (EC 2.4.1.155)	A0A8I5ZTQ1	Mgat5b	protein N-linked glycosylation [GO:0006487]; protein O-linked glycosylation via serine [GO:0018242]	Golgi apparatus [GO:0005794]; Golgi membrane [GO:0000139]	alpha-1,6-mannosylglycoprotein 6-beta-N-acetylglucosaminyltransferase activity [GO:0030144]; manganese ion binding [GO:0030145]
Serpin family A member 1	A0A0G2JSJ9	Serpina1		extracellular space [GO:0005615]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]
Actinin alpha 4	A0A0G2K5U9	Actn4		cellular anatomical	actin binding [GO:0003779];

				entity [GO:0110165]	calcium ion binding [GO:0005509]
Alpha-galactosidase (EC 3.2.1.-)	A0A8I6B4W8	Naga	carbohydrate metabolic process [GO:0005975]; lipid metabolic process [GO:0006629]	lysosome [GO:0005764]	hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds [GO:0004553]
Amine oxidase (EC 1.4.3.-)	A0A8I6AT92	Maoa			primary amine oxidase activity [GO:0008131]
Aminotransferase class I/classII domain-containing protein	A0A8I6GJD2	ENSRNOG00000064101	amino acid metabolic process [GO:0006520]; biosynthetic process [GO:0009058]		pyridoxal phosphate binding [GO:0030170]; transaminase activity [GO:0008483]
Amyloid-beta A4 precursor protein- binding family A member 2 (Adapter protein X11beta) (Neuron-specific X11L protein) (Neuronal Munc18-1- interacting protein 2) (Mint-2)	O35431	Apba2 Mint2	chemical synaptic transmission [GO:0007268]; in utero embryonic development [GO:0001701]; locomotory behavior [GO:0007626]; multicellular organism growth [GO:0035264]; presynaptic modulation of chemical synaptic transmission [GO:0099171]; protein transport [GO:0015031]; regulation of gene	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; dendritic spine [GO:0043197]; plasma membrane [GO:0005886]; presynapse [GO:0098793]; Schaffer collateral - CA1 synapse [GO:0098685]	amyloid-beta binding [GO:0001540]; identical protein binding [GO:0042802]; phosphatidylinositol-4,5- bisphosphate binding [GO:0005546]

			expression [GO:0010468]; regulation of synaptic vesicle exocytosis [GO:2000300]; synaptic vesicle exocytosis [GO:0016079]		
Annexin	A0A8I6A8I9; A0A8I5ZKF7	Anxa1		apical plasma membrane [GO:0016324]; basolateral plasma membrane [GO:0016323]; cilium [GO:0005929]; early endosome [GO:0005769]; endosome membrane [GO:0010008]; extracellular space [GO:0005615]; lateral plasma membrane [GO:0016328]; nucleus [GO:0005634]; phagocytic cup [GO:0001891]	calcium ion binding [GO:0005509]; calcium- dependent phospholipid binding [GO:0005544]; phospholipase A2 inhibitor activity [GO:0019834]
Annexin	A0A8I5ZPN9	Anxa2		basement membrane [GO:0005604]; extracellular region	calcium ion binding [GO:0005509]; calcium- dependent phospholipid binding

				[GO:0005576]; membrane [GO:0016020]	[GO:0005544]; cytoskeletal protein binding [GO:0008092]; phospholipase inhibitor activity [GO:0004859]
Annexin	A0A8I5ZUK7	Anxa5	negative regulation of coagulation [GO:0050819]		calcium ion binding [GO:0005509]; calcium- dependent phospholipid binding [GO:0005544]
Annexin	A0A8I5ZJA4	Anxa6		melanosome [GO:0042470]	calcium ion binding [GO:0005509]; calcium- dependent phospholipid binding [GO:0005544]
Armadillo repeat containing 2	A0A8I6A0V3	Armc2	cilium organization [GO:0044782]; sperm axoneme assembly [GO:0007288]		
ATP synthase subunit beta (EC 7.1.2.2)	G3V6D3	Atp5f1b Atp5b	angiogenesis [GO:0001525]; cellular response to interleukin- 7 [GO:0098761]; lipid metabolic process [GO:0006629]; negative regulation of cell adhesion involved in substrate-bound cell migration [GO:0006933]; positive regulation of blood vessel endothelial cell	cell surface [GO:0009986]; mitochondrial nucleoid [GO:0042645]; mitochondrial proton- transporting ATP synthase complex [GO:0005753]; plasma membrane [GO:0005886]; proton- transporting ATP synthase complex, catalytic core F(1)	angiotensin binding [GO:0043532]; ATP binding [GO:0005524]; MHC class I protein binding [GO:0042288]; proton-transporting ATP synthase activity, rotational mechanism [GO:0046933]; proton-transporting ATPase activity, rotational mechanism [GO:0046961]

			migration [GO:0043536]; proton motive force-driven mitochondrial ATP synthesis [GO:0042776]; regulation of intracellular pH [GO:0051453]	[GO:0045261]	
ATP-citrate synthase (EC 2.3.3.8) (ATP-citrate (pro-S-)-lyase) (Citrate cleavage enzyme)	A0A0G2K5E7	Acly	acetyl-CoA biosynthetic process [GO:0006085]; citrate metabolic process [GO:0006101]; lipid metabolic process [GO:0006629]; tricarboxylic acid cycle [GO:0006099]	cytoplasm [GO:0005737]	ATP binding [GO:0005524]; ATP citrate synthase activity [GO:0003878]
AT-rich interaction domain 2	D3ZJU0	Arid2	cardiac muscle cell proliferation [GO:0060038]; circulatory system development [GO:0072359]; coronary artery morphogenesis [GO:0060982]; embryonic organ development	nucleoplasm [GO:0005654]; plasma membrane [GO:0005886]; SWI/SNF complex [GO:0016514]	DNA binding [GO:0003677]

			[GO:0048568]; heart morphogenesis [GO:0003007]; homeostatic process [GO:0042592]; negative regulation of cell migration [GO:0030336]; negative regulation of cell population proliferation [GO:0008285]; nucleosome disassembly [GO:0006337]; positive regulation of double-strand break repair via homologous recombination [GO:1905168]; regulation of DNA-templated transcription [GO:0006355]		
Beta-2-microglobulin	A0A8I6A949	B2m	antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class I [GO:0002474]; immune response [GO:0006955]	extracellular region [GO:0005576]; MHC class I protein complex [GO:0042612]	

Biglycan	A0A8I6A8T9	Bgn			
Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 4	F1LTZ5	Enpp4	positive regulation of blood coagulation [GO:0030194]; purine ribonucleoside catabolic process [GO:0046130]	membrane [GO:0016020]	bis(5'-adenosyl)-triphosphatase activity [GO:0047710]
C1q and TNF related 4	B5DF52	C1qtnf4	positive regulation of interleukin-6 production [GO:0032755]; positive regulation of interleukin-6-mediated signaling pathway [GO:0070105]; positive regulation of NIK/NF-kappaB signaling [GO:1901224]; positive regulation of tumor necrosis factor production [GO:0032760]	extracellular space [GO:0005615]	
Calcium and integrin-binding family member 2	Q568Z7	Cib2	calcium ion homeostasis [GO:0055074]; cellular response to ATP [GO:0071318]; photoreceptor cell maintenance	cell periphery [GO:0071944]; cuticular plate [GO:0032437]; cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; muscle	calcium ion binding [GO:0005509]; integrin binding [GO:0005178]; magnesium ion binding [GO:0000287]; protein homodimerization activity [GO:0042803]; protein-containing complex binding

			[GO:0045494]; positive regulation of cytosolic calcium ion concentration [GO:0007204]	tendon junction [GO:0005927]; neuromuscular junction [GO:0031594]; photoreceptor inner segment [GO:0001917]; photoreceptor outer segment [GO:0001750]; sarcolemma [GO:0042383]; stereocilium [GO:0032420]	[GO:0044877]
Calcium regulated heat stable protein 1	A0A8I5ZMT7	Carhsp1			nucleic acid binding [GO:0003676]
Calmodulin regulated spectrin-associated protein family, member 3	A0A0G2K5C0	Camsap3	cilium movement [GO:0003341]; cytoplasmic microtubule organization [GO:0031122]; embryo development ending in birth or egg hatching [GO:0009792]; epithelial cell-cell adhesion [GO:0090136]; establishment of	axoneme [GO:0005930]; ciliary basal body [GO:0036064]; cytoplasm [GO:0005737]; microtubule cytoskeleton [GO:0015630]; microtubule minus-end [GO:0036449]; motile cilium [GO:0031514]; zonula adherens	actin filament binding [GO:0051015]; calmodulin binding [GO:0005516]; microtubule minus-end binding [GO:0051011]; spectrin binding [GO:0030507]

			epithelial cell apical/basal polarity [GO:0045198]; establishment or maintenance of microtubule cytoskeleton polarity [GO:0030951]; in utero embryonic development [GO:0001701]; microtubule anchoring [GO:0034453]; microtubule cytoskeleton organization [GO:0000226]; negative regulation of microtubule depolymerization [GO:0007026]; neuron projection development [GO:0031175]; protein transport along microtubule [GO:0098840]; regulation of cell migration [GO:0030334];	[GO:0005915]	

			regulation of focal adhesion assembly [GO:0051893]; regulation of Golgi organization [GO:1903358]; regulation of microtubule cytoskeleton organization [GO:0070507]; regulation of microtubule polymerization [GO:0031113]; regulation of organelle organization [GO:0033043]; zonula adherens maintenance [GO:0045218]		
Calreticulin (CALBP) (CRP55) (Calcium-binding protein 3) (CABP3) (Calregulin) (Endoplasmic reticulum resident protein 60) (ERp60) (HACBP)	P18418; A0A8L2Q1G7	Calr	cardiac muscle cell differentiation [GO:0055007]; cellular response to electrical stimulus [GO:0071257]; cellular response to lithium ion [GO:0071285]; cellular response to organic	acrosomal vesicle [GO:0001669]; cell surface [GO:0009986]; collagen-containing extracellular matrix [GO:0062023]; cortical granule [GO:0060473]; cytolytic granule [GO:0044194];	calcium ion binding [GO:0005509]; carbohydrate binding [GO:0030246]; complement component C1q complex binding [GO:0001849]; hormone binding [GO:0042562]; integrin binding [GO:0005178]; iron ion binding [GO:0005506]; mRNA binding [GO:0003729];

		substance [GO:0071310]; cellular response to virus [GO:0098586]; cellular senescence [GO:0090398]; cortical actin cytoskeleton organization [GO:0030866]; negative regulation of DNA-templated transcription [GO:0045892]; negative regulation of intracellular steroid hormone receptor signaling pathway [GO:0033144]; negative regulation of neuron differentiation [GO:0045665]; negative regulation of retinoic acid receptor signaling pathway [GO:0048387]; negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122];	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; endoplasmic reticulum [GO:0005783]; endoplasmic reticulum lumen [GO:0005788]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; endoplasmic reticulum quality control compartment [GO:0044322]; external side of plasma membrane [GO:0009897]; extracellular space [GO:0005615]; Golgi apparatus [GO:0005794]; intracellular membrane-bounded organelle [GO:0043231]; membrane [GO:0016020]; MHC class I peptide loading complex	nuclear androgen receptor binding [GO:0050681]; nuclear export signal receptor activity [GO:0005049]; peptide binding [GO:0042277]; ubiquitin protein ligase binding [GO:0031625]; unfolded protein binding [GO:0051082]

		negative regulation of translation [GO:0017148]; negative regulation of trophoblast cell migration [GO:1901164]; peptide antigen assembly with MHC class I protein complex [GO:0002502]; positive regulation of cell cycle [GO:0045787]; positive regulation of cell population proliferation [GO:0008284]; positive regulation of dendritic cell chemotaxis [GO:2000510]; positive regulation of endothelial cell migration [GO:0010595]; positive regulation of gene expression [GO:0010628]; positive regulation of NIK/NF-kappaB signaling [GO:1901224]; positive	[GO:0042824]; nuclear envelope [GO:0005635]; nucleus [GO:0005634]; perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]; plasma membrane [GO:0005886]; polysome [GO:0005844]; protein-containing complex [GO:0032991]; sarcoplasmic reticulum [GO:0016529]; sarcoplasmic reticulum lumen [GO:0033018]; smooth endoplasmic reticulum [GO:0005790]	

			regulation of phagocytosis [GO:0050766]; positive regulation of substrate adhesion-dependent cell spreading [GO:1900026]; protein export from nucleus [GO:0006611]; protein folding [GO:0006457]; protein localization to nucleus [GO:0034504]; protein stabilization [GO:0050821]; regulation of meiotic nuclear division [GO:0040020]; response to estradiol [GO:0032355]; response to glycoside [GO:1903416]; response to organic substance [GO:0010033]; response to testosterone [GO:0033574]; response to xenobiotic stimulus [GO:0009410];		

			selective autophagy [GO:0061912]; spermatogenesis [GO:0007283]; ubiquitin-dependent ERAD pathway [GO:0030433]		
Calreticulin	A0A8L2Q6S9	Calr	protein folding [GO:0006457]	endoplasmic reticulum lumen [GO:0005788]	calcium ion binding [GO:0005509]; unfolded protein binding [GO:0051082]
Carbonic anhydrase (EC 4.2.1.1)	A0A8I6AMP9	Car3			carbonate dehydratase activity [GO:0004089]; zinc ion binding [GO:0008270]
Carbonic anhydrase (EC 4.2.1.1)	B2GV72	Car2			carbonate dehydratase activity [GO:0004089]; zinc ion binding [GO:0008270]
Carbonyl reductase [NADPH] 3 (EC 1.1.1.184) (Monomeric carbonyl reductase 3) (Quinone reductase CBR3) (EC 1.6.5.10)	A0A8I5XWT0	Cbr3	cognition [GO:0050890]; phyloquinone catabolic process [GO:0042376]	cytosol [GO:0005829]	3-keto sterol reductase activity [GO:0000253]; carbonyl reductase (NADPH) activity [GO:0004090]; NADPH binding [GO:0070402]; NADPH dehydrogenase (quinone) activity [GO:0008753]
CD55 molecule (Cromer blood group)	A0A8I6A4L9	Cd55	maternal process involved in parturition [GO:0060137]; negative regulation of complement activation	apical plasma membrane [GO:0016324]; cell surface [GO:0009986]; external side of plasma	enzyme inhibitor activity [GO:0004857]; lipid binding [GO:0008289]; virus receptor activity [GO:0001618]

			[GO:0045916]; positive regulation of CD4-positive, alpha-beta T cell activation [GO:2000516]; positive regulation of CD4-positive, alpha-beta T cell proliferation [GO:2000563]; positive regulation of cytosolic calcium ion concentration [GO:0007204]; positive regulation of T cell cytokine production [GO:0002726]; regulation of complement activation [GO:0030449]; regulation of complement activation, classical pathway [GO:0030450]; regulation of complement-dependent cytotoxicity [GO:1903659]; regulation of lipopolysaccharide-	membrane [GO:0009897]; membrane raft [GO:0045121]; plasma membrane [GO:0005886]	

			mediated signaling pathway [GO:0031664]; response to peptide hormone [GO:0043434]; spermatogenesis [GO:0007283]		
Cingulin	P23514	Cgn	bicellular tight junction assembly [GO:0070830]; epithelial cell morphogenesis [GO:0003382]; microtubule cytoskeleton organization [GO:0000226]	apical junction complex [GO:0043296]; bicellular tight junction [GO:0005923]; brush border [GO:0005903]; myosin complex [GO:0016459]	microtubule binding [GO:0008017]
Coatomer subunit beta (Beta-coat protein) (Beta-COP)	A0A8I5Y1T3	Copb1 Copb	endoplasmic reticulum to Golgi vesicle-mediated transport [GO:0006888]; intra-Golgi vesicle-mediated transport [GO:0006891]; intracellular protein transport [GO:0006886]; retrograde vesicle-	COPI vesicle coat [GO:0030126]; COPI-coated vesicle [GO:0030137]; cytosol [GO:0005829]; endoplasmic reticulum [GO:0005783]; endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment [GO:0005793]; Golgi	structural molecule activity [GO:0005198]

			mediated transport, Golgi to endoplasmic reticulum [GO:0006890]	apparatus [GO:0005794]; Golgi membrane [GO:0000139]; Golgi- associated vesicle [GO:0005798]; plasma membrane [GO:0005886]	
Coiled-coil domain containing 152	M0RDR9	Ccdc152			
Collagen type VI alpha 1 chain	A0A8I5ZTR6	Col6a1	cellular response to amino acid stimulus [GO:0071230]; endodermal cell differentiation [GO:0035987]; extracellular matrix organization [GO:0030198]	extracellular matrix [GO:0031012]; extracellular region [GO:0005576]; extracellular space [GO:0005615]; protein- containing complex [GO:0032991]; sarcolemma [GO:0042383]	collagen binding [GO:0005518]; extracellular matrix structural constituent [GO:0005201]; platelet-derived growth factor binding [GO:0048407]
Collagen type VI alpha 3 chain	A0A8I6GAZ6	Col6a3	cell adhesion [GO:0007155]; response to glucose [GO:0009749]	collagen trimer [GO:0005581]; extracellular matrix [GO:0031012]; extracellular space [GO:0005615]; sarcolemma [GO:0042383]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]
Collagen type XXV alpha 1 chain	A0A8L2PYP2	Col25a1	axonogenesis involved in innervation	extracellular region [GO:0005576];	amyloid-beta binding [GO:0001540]; heparin binding

			[GO:0060385]	extracellular space [GO:0005615]; plasma membrane [GO:0005886]	[GO:0008201]
C-reactive protein	A0A8L2Q875	Crp			
creatine kinase (EC 2.7.3.2)	F1M8T4	Ckb	phosphocreatine biosynthetic process [GO:0046314]; phosphorylation [GO:0016310]		ATP binding [GO:0005524]; creatine kinase activity [GO:0004111]
Crystallin beta-gamma domain containing 3	P22282; A0A0G2JSU6	Crybg3	lens development in camera-type eye [GO:0002088]; visual perception [GO:0007601]	protein-containing complex [GO:0032991]	carbohydrate binding [GO:0030246]; protein kinase A binding [GO:0051018]; structural constituent of eye lens [GO:0005212]
Cystatin-related protein 1 (CRP-1) (Androgen-regulated 20 kDa protein) (Prostatic 22 kDa glycoprotein P22K16/P22K20)	P22283	Andpro Crp1	androgen receptor signaling pathway [GO:0030521]; cellular response to dexamethasone stimulus [GO:0071549]; cellular response to testosterone stimulus [GO:0071394]; negative regulation of cysteine-type endopeptidase activity [GO:2000117];	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; extracellular region [GO:0005576]; extracellular space [GO:0005615]; nucleus [GO:0005634]; vesicle [GO:0031982]	cysteine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004869]

			response to testosterone [GO:0033574]		
Cystatin-related protein 2 (Prostatic 22 kDa glycoprotein P22K15)	Z4YNX7	Crp2 P22k15	negative regulation of cysteine-type endopeptidase activity [GO:2000117]	cytoplasm [GO:0005737]; extracellular space [GO:0005615]; vesicle [GO:0031982]	cysteine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004869]
Cystatin-related protein 2	A0A8I5YCE4	P22k15			
Cytoskeleton associated protein 5	P80254	Ckap5	central nervous system myelin formation [GO:0032289]; centrosome cycle [GO:0007098]; cytoplasmic translation [GO:0002181]; dendritic spine maintenance [GO:0097062]; establishment or maintenance of microtubule cytoskeleton polarity [GO:0030951]; excitatory postsynaptic potential [GO:0060079]; habituation [GO:0046959]; locomotory behavior	centrosome [GO:0005813]; cytoplasm [GO:0005737]; dendrite [GO:0030425]; kinetochore [GO:0000776]; neuronal ribonucleoprotein granule [GO:0071598]; perikaryon [GO:0043204]; postsynapse [GO:0098794]; protein- containing complex [GO:0032991]; spindle pole [GO:0000922]	microtubule binding [GO:0008017]; microtubule plus end polymerase [GO:0061863]; microtubule plus-end binding [GO:0051010]; ribonucleoprotein complex binding [GO:0043021]

			[GO:0007626]; long-term synaptic potentiation [GO:0060291]; microtubule polymerization [GO:0046785]; mRNA localization resulting in post-transcriptional regulation of gene expression [GO:0010609]; positive regulation of endocytosis [GO:0045807]; positive regulation of microtubule nucleation [GO:0090063]; ribonucleoprotein complex assembly [GO:0022618]; spindle organization [GO:0007051]; visual learning [GO:0008542]		
D-dopachrome decarboxylase (EC 4.1.1.84) (D-dopachrome tautomerase)	A0A8I6AAW0	Ddt	inflammatory response [GO:0006954]; melanin biosynthetic process [GO:0042438]; negative regulation of	cytoplasm [GO:0005737]; extracellular space [GO:0005615]	cytokine receptor binding [GO:0005126]; D-dopachrome decarboxylase activity [GO:0033981]; dopachrome isomerase activity

			macrophage chemotaxis [GO:0010760]; positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade [GO:0070374]; positive regulation of inflammatory response [GO:0050729]; positive regulation of tumor necrosis factor production [GO:0032760]		[GO:0004167]; phenylpyruvate tautomerase activity [GO:0050178]; protease binding [GO:0002020]
Decorin	A0A0G2JV16	Dcn		extracellular region [GO:0005576]	
Dedicator of cytokinesis 11	A0A815ZRT6	Dock11	B cell homeostasis [GO:0001782]; marginal zone B cell differentiation [GO:0002315]; positive regulation of filopodium assembly [GO:0051491]; positive regulation of GTPase activity [GO:0043547]; regulation of catalytic activity [GO:0050790]; small GTPase mediated signal transduction		guanyl-nucleotide exchange factor activity [GO:0005085]; small GTPase binding [GO:0031267]

			[GO:0007264]		
Dedicator of cytokinesis 2	A0A8I6ANC1	Dock2	actin cytoskeleton organization [GO:0030036]; alpha-beta T cell activation [GO:0046631]; alpha-beta T cell proliferation [GO:0046633]; chemotaxis [GO:0006935]; cytoskeleton organization [GO:0007010]; establishment of T cell polarity [GO:0001768]; immunological synapse formation [GO:0001771]; macropinocytosis [GO:0044351]; membrane raft polarization [GO:0001766]; myeloid dendritic cell activation involved in immune response [GO:0002277]; negative thymic T cell selection	cytoplasm [GO:0005737]	GTPase activator activity [GO:0005096]; guanyl-nucleotide exchange factor activity [GO:0005085]; T cell receptor binding [GO:0042608]

			[GO:0045060]; positive regulation of phagocytosis [GO:0050766]; positive thymic T cell selection [GO:0045059]; regulation of catalytic activity [GO:0050790]; small GTPase mediated signal transduction [GO:0007264]; T cell activation [GO:0042110]; T cell proliferation [GO:0042098]		
Desmin	D4A315	Des		intermediate filament [GO:0005882]	
ADF-H domain-containing protein	A0A0G2JXZ3	AC093995.1	actin filament fragmentation [GO:0030043]; actin filament severing [GO:0051014]	actin cytoskeleton [GO:0015629]; cytoplasm [GO:0005737]	actin filament binding [GO:0051015]
DNA helicase (EC 3.6.4.12) (ATP-dependent helicase ATRX)	A0A8I5ZZ60	Atrx	DNA repair [GO:0006281]	chromosome, telomeric region [GO:0000781]; nucleus [GO:0005634]	ATP binding [GO:0005524]; ATP-dependent chromatin remodeler activity [GO:0140658]; metal ion binding [GO:0046872]
DNA helicase (EC 3.6.4.12)	A0A8I5ZZV1	Chd3	centrosome cycle [GO:0007098];	centrosome [GO:0005813];	ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity

			chromatin organization [GO:0006325]; chromatin remodeling [GO:0006338]; histone deacetylation [GO:0016575]; negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]; spindle organization [GO:0007051]	chromatin [GO:0000785]; cytoplasm [GO:0005737]; nucleus [GO:0005634]; NuRD complex [GO:0016581]; PML body [GO:0016605]	[GO:0016887]; ATP-dependent chromatin remodeler activity [GO:0140658]; chromatin binding [GO:0003682]; DNA binding [GO:0003677]; helicase activity [GO:0004386]; histone binding [GO:0042393]; metal ion binding [GO:0046872]; transcription cis-regulatory region binding [GO:0000976]
DNA methyltransferase 3C	D3ZFP4	Dnmt3c	DNA methylation on cytosine [GO:0032776]; regulation of gene expression [GO:0010468]	nucleus [GO:0005634]	metal ion binding [GO:0046872]; methyltransferase activity [GO:0008168]
DNA replication licensing factor MCM3 (EC 3.6.4.12)	Q14U74	Mcm3	DNA strand elongation involved in DNA replication [GO:0006271]; DNA unwinding involved in DNA replication [GO:0006268]; double-strand break repair via break-induced replication [GO:0000727]; mitotic	centrosome [GO:0005813]; CMG complex [GO:0071162]; cytoplasm [GO:0005737]; MCM complex [GO:0042555]; nucleus [GO:0005634]; perinuclear region of cytoplasm	ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]; helicase activity [GO:0004386]; single-stranded DNA binding [GO:0003697]

			DNA replication initiation [GO:1902975]	[GO:0048471]	
Dolichyl-phosphate-mannose--protein mannosyltransferase (EC 2.4.1.109)	A0A0G2JYL5	Pomt2	basement membrane organization [GO:0071711]; dentate gyrus development [GO:0021542]; positive regulation of protein O-linked glycosylation [GO:1904100]; protein O-linked mannosylation [GO:0035269]; reactive gliosis [GO:0150103]	cytosol [GO:0005829]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; nucleolus [GO:0005730]; nucleoplasm [GO:0005654]	dolichyl-phosphate-mannose-protein mannosyltransferase activity [GO:0004169]; mannosyltransferase activity [GO:0000030]
Dynein, axonemal, heavy chain 2	A0A8I6G4W4	Dnah2	cilium movement [GO:0003341]; cilium-dependent cell motility [GO:0060285]; inner dynein arm assembly [GO:0036159]	axonemal dynein complex [GO:0005858]; axoneme [GO:0005930]; cilium [GO:0005929]; dynein complex [GO:0030286]; inner dynein arm [GO:0036156]; microtubule [GO:0005874]; motile cilium [GO:0031514]; sperm flagellum	ATP binding [GO:0005524]; dynein intermediate chain binding [GO:0045505]; dynein light intermediate chain binding [GO:0051959]; minus-end-directed microtubule motor activity [GO:0008569]

				[GO:0036126]	
Ring finger protein 34	A0A8I6AEM9	Rnf34	apoptotic process [GO:0006915]	cytosol [GO:0005829]; plasma membrane [GO:0005886]	metal ion binding [GO:0046872]
Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1	A0A8L2QDI1	Eef1a1		cellular anatomical entity [GO:0110165]	GTP binding [GO:0005525]; GTPase activity [GO:0003924]; translation elongation factor activity [GO:0003746]
78 kDa glucose-regulated protein (Binding-immunoglobulin protein) (Heat shock protein 70 family protein 5) (Heat shock protein family A member 5) (Immunoglobulin heavy chain-binding protein)	A0A0G2K4I4	Hspa5		cell surface [GO:0009986]; endoplasmic reticulum lumen [GO:0005788]; melanosome [GO:0042470]	ATP binding [GO:0005524]; ATP-dependent protein folding chaperone [GO:0140662]
Endoplasmic	B2RYJ8	Hsp90b1	actin rod assembly [GO:0031247]; cellular response to ATP [GO:0071318]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; regulation of phosphoprotein phosphatase activity [GO:0043666]; response to hypoxia [GO:0001666]; retrograde protein transport, ER to cytosol	cytosol [GO:0005829]; endoplasmic reticulum lumen [GO:0005788]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; melanosome [GO:0042470]; midbody [GO:0030496]; perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]; protein- containing complex [GO:0032991]	ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]; ATP-dependent protein folding chaperone [GO:0140662]; low-density lipoprotein particle receptor binding [GO:0050750]; protein phosphatase binding [GO:0019903]; RNA binding [GO:0003723]; unfolded protein binding [GO:0051082]

			[GO:0030970]; ubiquitin-dependent ERAD pathway [GO:0030433]		
Epithelial splicing regulatory protein 2 (RNA-binding motif protein 35B) (RNA-binding protein 35B)	A0A8I6A3U9	Esrp2 Rbm35b	alternative mRNA splicing, via spliceosome [GO:0000380]; branching involved in salivary gland morphogenesis [GO:0060445]; epithelial cell proliferation [GO:0050673]; epithelial tube branching involved in lung morphogenesis [GO:0060441]; positive regulation of epithelial cell proliferation [GO:0050679]; regulation of RNA splicing [GO:0043484]	nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]; ribonucleoprotein complex [GO:1990904]	mRNA binding [GO:0003729]
Epsin 3	A0A1W2Q678	Epn3			lipid binding [GO:0008289]
Family with sequence similarity 120C	A0A0G2JTA0	FAM120C			
Fas associated factor family member 2	A0A8I5Y7N0	Faf2	lipid droplet organization [GO:0034389];	lipid droplet [GO:0005811]; VCP- NPL4-UFD1 AAA	lipase binding [GO:0035473]; lipase inhibitor activity [GO:0055102]; ubiquitin binding

			retrograde protein transport, ER to cytosol [GO:0030970]; ubiquitin-dependent ERAD pathway [GO:0030433]	ATPase complex [GO:0034098]	[GO:0043130]; ubiquitin protein ligase binding [GO:0031625]
Fatty acid binding protein 4	A0A8I5ZUC1	Fabp4			lipid binding [GO:0008289]
Ferritin	A0A096MJX4	Ftl1	intracellular iron ion homeostasis [GO:0006879]; iron ion transport [GO:0006826]		ferric iron binding [GO:0008199]
Fibrous sheath-interacting protein 2	A0A8I6AIZ0	Fsip2	flagellated sperm motility [GO:0030317]; protein localization to cilium [GO:0061512]; sperm axoneme assembly [GO:0007288]	sperm connecting piece [GO:0097224]; sperm end piece [GO:0097229]; sperm midpiece [GO:0097225]; sperm principal piece [GO:0097228]	
Fraser extracellular matrix complex subunit 1	A0A0G2JVI4	Fras1	anatomical structure morphogenesis [GO:0009653]; cell communication [GO:0007154]; embryonic limb morphogenesis [GO:0030326]; metanephros	basement membrane [GO:0005604]; collagen-containing extracellular matrix [GO:0062023]; membrane [GO:0016020]	

			morphogenesis [GO:0003338]; morphogenesis of an epithelium [GO:0002009]; protein transport [GO:0015031]; roof of mouth development [GO:0060021]; skin development [GO:0043588]		
Fucose kinase	D4A8X5	Fcsk Fuk	carbohydrate phosphorylation [GO:0046835]; GDP- L-fucose salvage [GO:0042352]; response to dopamine [GO:1903350]		ATP binding [GO:0005524]; fucokinase activity [GO:0050201]
G protein-coupled receptor 45	A0A1K0H3R5	Gpr45	G protein-coupled receptor signaling pathway [GO:0007186]	membrane [GO:0016020]	G protein-coupled receptor activity [GO:0004930]
Hemoglobin, beta adult major chain	P04905; A0A8I6AIM5; G3V983	Hbb-b1 Hbb Hbb-b2 Hbb-bs LOC100134871	erythrocyte development [GO:0048821]; myeloid cell differentiation [GO:0030099]; oxygen transport [GO:0015671]; positive	hemoglobin complex [GO:0005833]	heme binding [GO:0020037]; metal ion binding [GO:0046872]; oxygen binding [GO:0019825]; oxygen carrier activity [GO:0005344]

			regulation of myeloid cell differentiation [GO:0045639]; regulation of erythrocyte differentiation [GO:0045646]		
Glutathione S-transferase Mu 1 (EC 2.5.1.18) (GST 3-3) (GSTM1-1) (Glutathione S-transferase Yb-1) (GST Yb1)	P08010; A0A8I6AJ43	Gstm1	aging [GO:0007568]; cellular detoxification of nitrogen compound [GO:0070458]; cellular response to xenobiotic stimulus [GO:0071466]; glutathione derivative biosynthetic process [GO:1901687]; glutathione metabolic process [GO:0006749]; hepxilin biosynthetic process [GO:0051122]; nitrobenzene metabolic process [GO:0018916]; prostaglandin metabolic process [GO:0006693]; response to amino acid [GO:0043200]; response to antibiotic	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; extracellular region [GO:0005576]; protein-containing complex [GO:0032991]	enzyme binding [GO:0019899]; glutathione binding [GO:0043295]; glutathione transferase activity [GO:0004364]; identical protein binding [GO:0042802]; nickel cation binding [GO:0016151]; protein homodimerization activity [GO:0042803]; protein kinase binding [GO:0019901]; steroid binding [GO:0005496]

			[GO:0046677]; response to axon injury [GO:0048678]; response to ethanol [GO:0045471]; response to lead ion [GO:0010288]; response to lithium ion [GO:0010226]; response to metal ion [GO:0010038]; response to xenobiotic stimulus [GO:0009410]; sensory perception of smell [GO:0007608]; xenobiotic catabolic process [GO:0042178]		
Glutathione S-transferase Mu 2 (EC 2.5.1.18) (GST 4-4) (GSTM2-2) (Glutathione S-transferase Yb-2) (GST Yb2)	G3V8H3	Gstm2	aging [GO:0007568]; cellular detoxification of nitrogen compound [GO:0070458]; cellular response to caffeine [GO:0071313]; glutathione metabolic process [GO:0006749]; hepoxilin biosynthetic process [GO:0051122]; linoleic acid metabolic	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; plasma membrane [GO:0005886]; protein- containing complex [GO:0032991]; sarcolemmal reticulum [GO:0016529]	enzyme binding [GO:0019899]; fatty acid binding [GO:0005504]; glutathione binding [GO:0043295]; glutathione peroxidase activity [GO:0004602]; glutathione transferase activity [GO:0004364]; identical protein binding [GO:0042802]; protein homodimerization activity [GO:0042803]; signaling

			process [GO:0043651]; negative regulation of ryanodine-sensitive calcium-release channel activity [GO:0060315]; nitrobenzene metabolic process [GO:0018916]; positive regulation of ryanodine-sensitive calcium-release channel activity [GO:0060316]; regulation of release of sequestered calcium ion into cytosol by sarcoplasmic reticulum [GO:0010880]; response to catechin [GO:1902168]; response to genistein [GO:0033595]; response to metal ion [GO:0010038]; response to organic cyclic compound [GO:0014070]; sensory perception of smell [GO:0007608];		receptor binding [GO:0005102]

			xenobiotic catabolic process [GO:0042178]; xenobiotic metabolic process [GO:0006805]		
Glutathione S-transferase mu 2	P08009	Gstm7 Gstm2			glutathione transferase activity [GO:0004364]
Glutathione S-transferase Mu 7 (EC 2.5.1.18) (Chain 4) (GST Yb3) (GST class-mu 3) (Glutathione S-transferase Yb-3)	P04906	Gstm7 Gstm3	cellular detoxification of nitrogen compound [GO:0070458]; cellular response to caffeine [GO:0071313]; glutathione metabolic process [GO:0006749]; hepxilin biosynthetic process [GO:0051122]; linoleic acid metabolic process [GO:0043651]; negative regulation of ryanodine-sensitive calcium-release channel activity [GO:0060315]; nitrobenzene metabolic process [GO:0018916]; positive regulation of ryanodine-sensitive calcium-release channel activity [GO:0060316];	cytosol [GO:0005829]; intercellular bridge [GO:0045171]; sarcoplasmic reticulum [GO:0016529]	enzyme binding [GO:0019899]; fatty acid binding [GO:0005504]; glutathione binding [GO:0043295]; glutathione peroxidase activity [GO:0004602]; glutathione transferase activity [GO:0004364]; protein homodimerization activity [GO:0042803]; signaling receptor binding [GO:0005102]

			regulation of release of sequestered calcium ion into cytosol by sarcoplasmic reticulum [GO:0010880]; xenobiotic catabolic process [GO:0042178]		
Glutathione S-transferase P (EC 2.5.1.18) (Chain 7) (GST 7-7) (GST class-pi)	A0A0G2K6L4	Gstp1	animal organ regeneration [GO:0031100]; cellular response to cell-matrix adhesion [GO:0071460]; cellular response to epidermal growth factor stimulus [GO:0071364]; cellular response to glucocorticoid stimulus [GO:0071385]; cellular response to insulin stimulus [GO:0032869]; cellular response to lipopolysaccharide [GO:0071222]; common myeloid progenitor cell proliferation [GO:0035726];	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; mitochondrion [GO:0005739]; nucleus [GO:0005634]; plasma membrane [GO:0005886]; protein-containing complex [GO:0032991]; TRAF2-GSTP1 complex [GO:0097057]	dinitrosyl-iron complex binding [GO:0035731]; fatty acid binding [GO:0005504]; glutathione peroxidase activity [GO:0004602]; glutathione transferase activity [GO:0004364]; JUN kinase binding [GO:0008432]; kinase regulator activity [GO:0019207]; organic cyclic compound binding [GO:0097159]; protein kinase binding [GO:0019901]; S-nitrosoglutathione binding [GO:0035730]; toxic substance binding [GO:0015643]

			glutathione derivative biosynthetic process [GO:1901687]; glutathione metabolic process [GO:0006749]; hepoxilin biosynthetic process [GO:0051122]; linoleic acid metabolic process [GO:0043651]; negative regulation of biosynthetic process [GO:0009890]; negative regulation of ERK1 and ERK2 cascade [GO:0070373]; negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway [GO:2001237]; negative regulation of fibroblast proliferation [GO:0048147]; negative regulation of I- kappaB kinase/NF- kappaB signaling [GO:0043124]; negative regulation of interleukin-1 beta production		

			[GO:0032691]; negative regulation of JUN kinase activity [GO:0043508]; negative regulation of leukocyte proliferation [GO:0070664]; negative regulation of MAP kinase activity [GO:0043407]; negative regulation of monocyte chemotactic protein-1 production [GO:0071638]; negative regulation of nitric-oxide synthase biosynthetic process [GO:0051771]; negative regulation of peroxidase activity [GO:2000469]; negative regulation of protein kinase activity [GO:0006469]; negative regulation of smooth muscle cell chemotaxis [GO:0071672]; negative regulation of		

			stress-activated MAPK cascade [GO:0032873]; negative regulation of tumor necrosis factor production [GO:0032720]; negative regulation of vascular associated smooth muscle cell proliferation [GO:1904706]; oligodendrocyte development [GO:0014003]; positive regulation of superoxide anion generation [GO:0032930]; prostaglandin metabolic process [GO:0006693]; regulation of ERK1 and ERK2 cascade [GO:0070372]; regulation of stress-activated MAPK cascade [GO:0032872]; response to amino acid [GO:0043200];		

			response to estradiol [GO:0032355]; response to ethanol [GO:0045471]; response to L-ascorbic acid [GO:0033591]; response to nutrient levels [GO:0031667]; response to reactive oxygen species [GO:0000302]; response to toxic substance [GO:0009636]; xenobiotic metabolic process [GO:0006805]		
glutathione transferase (EC 2.5.1.18)	G3V6Z7	Gstm6l Gstm2			glutathione transferase activity [GO:0004364]
Golgin subfamily A member 5 (Golgin-84)	D3ZQJ3	Golga5	Golgi organization [GO:0007030]; Golgi vesicle transport [GO:0048193]	cis-Golgi network [GO:0005801]; Golgi cisterna [GO:0031985]; Golgi membrane [GO:0000139]	protein homodimerization activity [GO:0042803]; small GTPase binding [GO:0031267]
GRB10 interacting GYF protein 1	A0A8I6A278	Gigyf1	insulin-like growth factor receptor signaling pathway [GO:0048009]	cytosol [GO:0005829]; protein-containing complex [GO:0032991]	
Heat shock protein family A (Hsp70) member 8	A0A0G2K793	Hspa8			ATP binding [GO:0005524]; ATP-dependent protein folding

					chaperone [GO:0140662]
Heat shock protein HSP 90-beta	A0A8I5ZYH2; A0A8L2QLW7	Hsp90ab1			ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]; ATP-dependent protein folding chaperone [GO:0140662]; unfolded protein binding [GO:0051082]
Hemoglobin alpha, adult chain 1	P01946	Hba-a1 Hba-a2 Hbq1b	cellular oxidant detoxification [GO:0098869]; erythrocyte development [GO:0048821]; hydrogen peroxide catabolic process [GO:0042744]; in utero embryonic development [GO:0001701]; nitric oxide transport [GO:0030185]; oxygen transport [GO:0015671]; positive regulation of cell death [GO:0010942]; response to bacterium [GO:0009617]; response to estradiol [GO:0032355];	cytosolic small ribosomal subunit [GO:0022627]; extracellular space [GO:0005615]; haptoglobin- hemoglobin complex [GO:0031838]; hemoglobin complex [GO:0005833]	heme binding [GO:0020037]; metal ion binding [GO:0046872]; organic acid binding [GO:0043177]; oxygen binding [GO:0019825]; oxygen carrier activity [GO:0005344]

			response to hydrogen peroxide [GO:0042542]		
Hemoglobin subunit alpha-1/2 (Alpha-1/2-globin) (Hemoglobin alpha-1/2 chain) [Cleaved into: Hemopressin]	A0A8I5ZXF1; A0A0G2JSW3; P02091	Hba1 Hba-a1	carbon dioxide transport [GO:0015670]; cellular oxidant detoxification [GO:0098869]; erythrocyte development [GO:0048821]; hydrogen peroxide catabolic process [GO:0042744]; in utero embryonic development [GO:0001701]; negative regulation of blood pressure [GO:0045776]; nitric oxide transport [GO:0030185]; oxygen transport [GO:0015671]; positive regulation of cell death [GO:0010942]; regulation of sensory perception of pain [GO:0051930];	haptoglobin-hemoglobin complex [GO:0031838]; hemoglobin complex [GO:0005833]; synapse [GO:0045202]	amyloid-beta binding [GO:0001540]; G protein-coupled receptor binding [GO:0001664]; heme binding [GO:0020037]; iron ion binding [GO:0005506]; organic acid binding [GO:0043177]; oxygen binding [GO:0019825]; oxygen carrier activity [GO:0005344]

			response to bacterium [GO:0009617]; response to stilbenoid [GO:0035634]		
Hemoglobin, beta adult major chain	A0A0G2JTW9	Hbb Hbb-b1 Hbb-b2 Hbb-bs LOC100134871 LOC120093065	erythrocyte development [GO:0048821]; myeloid cell differentiation [GO:0030099]; oxygen transport [GO:0015671]; positive regulation of myeloid cell differentiation [GO:0045639]; regulation of erythrocyte differentiation [GO:0045646]	hemoglobin complex [GO:0005833]	heme binding [GO:0020037]; metal ion binding [GO:0046872]; oxygen binding [GO:0019825]; oxygen carrier activity [GO:0005344]
Hemoglobin, beta adult major chain	P20059	Hbb-b1 Hbb Hbb-b2 Hbb-bs LOC100134871 LOC103694855 LOC120093065 LOC689064	erythrocyte development [GO:0048821]; myeloid cell differentiation [GO:0030099]; oxygen transport [GO:0015671]; positive regulation of myeloid cell differentiation	hemoglobin complex [GO:0005833]	heme binding [GO:0020037]; metal ion binding [GO:0046872]; oxygen binding [GO:0019825]; oxygen carrier activity [GO:0005344]

			[GO:0045639]; regulation of erythrocyte differentiation [GO:0045646]		
Hemopexin	A0A8I6A4I5	Hpx	heme metabolic process [GO:0042168]; hemoglobin metabolic process [GO:0020027]; intracellular iron ion homeostasis [GO:0006879]; positive regulation of humoral immune response mediated by circulating immunoglobulin [GO:0002925]; positive regulation of immunoglobulin production [GO:0002639]; positive regulation of response to type II interferon [GO:0060332]; positive regulation of type II interferon-mediated signaling pathway [GO:0060335]; positive regulation of tyrosine	extracellular space [GO:0005615]	heme transmembrane transporter activity [GO:0015232]; metal ion binding [GO:0046872]

			phosphorylation of STAT protein [GO:0042531]; regulation of protein metabolic process [GO:0051246]; type II interferon-mediated signaling pathway [GO:0060333]; tyrosine phosphorylation of STAT protein [GO:0007260]		
Hippocampus abundant transcript-like 3	A0A0G2K082	Mfsd14a Hiatl3 Slc35a3	acrosome assembly [GO:0001675]; carbohydrate transport [GO:0008643]; sperm mitochondrion organization [GO:0030382]; spermatid development [GO:0007286]; spermatid nucleus differentiation [GO:0007289]; spermatogenesis [GO:0007283]	Golgi membrane [GO:0000139]	pyrimidine nucleotide-sugar transmembrane transporter activity [GO:0015165]
Histone deacetylase (EC 3.5.1.98)	A0A0A0MXW3	Hdac9	cellular response to insulin stimulus	cytoplasm [GO:0005737]; histone	DNA-binding transcription factor binding [GO:0140297];

		[GO:0032869]; cholesterol homeostasis [GO:0042632]; determination of adult lifespan [GO:0008340]; DNA repair [GO:0006281]; DNA- templated transcription [GO:0006351]; heart development [GO:0007507]; histone deacetylation [GO:0016575]; histone H3 deacetylation [GO:0070932]; histone H4 deacetylation [GO:0070933]; histone H4-K16 deacetylation [GO:1990678]; negative regulation of cytokine production [GO:0001818]; negative regulation of DNA-templated transcription [GO:0045892]; negative regulation of gene expression, epigenetic	deacetylase complex [GO:0000118]; histone methyltransferase complex [GO:0035097]; nucleus [GO:0005634]; transcription regulator complex [GO:0005667]	histone deacetylase activity [GO:0004407]; histone deacetylase binding [GO:0042826]; histone H3K14 deacetylase activity [GO:0031078]; histone H3K9 deacetylase activity [GO:0032129]; histone H4K16 deacetylase activity [GO:0034739]; metal ion binding [GO:0046872]; protein kinase C binding [GO:0005080]; protein lysine deacetylase activity [GO:0033558]; RNA polymerase II-specific DNA- binding transcription factor binding [GO:0061629]; transcription corepressor activity [GO:0003714]

			[GO:0045814]; negative regulation of lipoprotein lipase activity [GO:0051005]; negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]; neuron differentiation [GO:0030182]; peptidyl-lysine deacetylation [GO:0034983]; positive regulation of cell migration involved in sprouting angiogenesis [GO:0090050]; regulation of skeletal muscle fiber development [GO:0048742]; regulation of skeletal muscle fiber differentiation [GO:1902809]; regulation of striated muscle cell differentiation [GO:0051153];		

			response to amphetamine [GO:0001975]		
Histone H2A	A0A0G2JXI9	H2az1 H2afz		nucleosome [GO:0000786]; nucleus [GO:0005634]	DNA binding [GO:0003677]; protein heterodimerization activity [GO:0046982]; structural constituent of chromatin [GO:0030527]
Histone H2B	P62804	ENSRNOG00000068034		nucleosome [GO:0000786]; nucleus [GO:0005634]	DNA binding [GO:0003677]; protein heterodimerization activity [GO:0046982]; structural constituent of chromatin [GO:0030527]
Histone H4 [Cleaved into: Osteogenic growth peptide (OGP)]	A0A0G2JXD6; F1LSN6; A0A8I5ZVT5	H4c2 Hist1h4b Hist4; Hist1h4m; H4c16 H4f16 H4ft Hist4h4	cell differentiation [GO:0030154]; chromatin organization [GO:0006325]; DNA replication-dependent chromatin assembly [GO:0006335]; negative regulation of megakaryocyte differentiation [GO:0045653]; nucleosome assembly [GO:0006334]; ossification [GO:0001503]	CENP-A containing nucleosome [GO:0043505]; extracellular region [GO:0005576]; nuclear chromosome [GO:0000228]; nucleoplasm [GO:0005654]; nucleosome [GO:0000786]; nucleus [GO:0005634]; protein- containing complex [GO:0032991]	DNA binding [GO:0003677]; protein domain specific binding [GO:0019904]; protein heterodimerization activity [GO:0046982]; structural constituent of chromatin [GO:0030527]
Hydin, axonemal central pair	A0A8I5XVN6	Hydin	axonemal central	axonemal central	

apparatus protein			apparatus assembly [GO:1904158]; brain development [GO:0007420]; cilium movement [GO:0003341]; epithelial cell development [GO:0002064]; trachea development [GO:0060438]; ventricular system development [GO:0021591]	apparatus [GO:1990716]; axonemal central pair projection [GO:1990718]; axoneme [GO:0005930]	
SPATA31 domain-containing protein	A0A0G2JUG1	LOC689526		membrane [GO:0016020]	
IF rod domain-containing protein	A0A8I6A244	AABR07001416.1	keratinization [GO:0031424]	keratin filament [GO:0045095]	structural constituent of skin epidermis [GO:0030280]
IF rod domain-containing protein	P20759	ENSRNOG00000069468		intermediate filament [GO:0005882]	structural molecule activity [GO:0005198]
Ig gamma-1 chain C region	P20760				
Ig gamma-2A chain C region	P20761	Igg-2a			
Ig gamma-2B chain C region (Immunoglobulin heavy chain 1a)	A0A0H2UI36	Igh-1a			
Ig-like domain-containing protein	A0A8I5Y765	AABR07060872.1			
Ig-like domain-containing protein	A0A8I5Y662	ENSRNOG00000064670			
Ig-like domain-containing protein	A0A8I5ZTU9	ENSRNOG00000063707			
Ig-like domain-containing protein	A0A8I6AP43	ENSRNOG00000064589			

Immunoglobulin V-set domain-containing protein	F1LN61	ENSRNOG00000064490			
Immunoglobulin heavy constant epsilon	F1M9B2	Ighm Ighe		membrane [GO:0016020]	
Insulin-like growth factor binding protein 7	A0A8I5ZQI3	Igfbp7	cell adhesion [GO:0007155]; cellular response to hormone stimulus [GO:0032870]; embryo implantation [GO:0007566]; inner ear development [GO:0048839]; regulation of cell growth [GO:0001558]; regulation of signal transduction [GO:0009966]; regulation of steroid biosynthetic process [GO:0050810]; response to cortisol [GO:0051414]; response to heat [GO:0009408]; response to organic cyclic compound [GO:0014070]; response to retinoic	collagen-containing extracellular matrix [GO:0062023]; extracellular space [GO:0005615]	insulin-like growth factor binding [GO:0005520]

			acid [GO:0032526]		
Integrator complex subunit 4	D4AAZ8	Ints4	snRNA processing [GO:0016180]	integrator complex [GO:0032039]; nucleus [GO:0005634]	
Interferon regulatory factor 2 binding protein 1	Q5XI55-2	Irf2bp1	negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]; protein polyubiquitination [GO:0000209]; regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0006357]	nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]	metal ion binding [GO:0046872]; transcription corepressor activity [GO:0003714]; ubiquitin protein ligase activity [GO:0061630]
Peptide-N(4)-(N-acetyl-beta-glucosaminyl)asparagine amidase (PNGase) (EC 3.5.1.52) (N-glycanase 1) (Peptide:N-glycanase)	P58775-2	Ngly1	ER-associated misfolded protein catabolic process [GO:0071712]; glycoprotein catabolic process [GO:0006516]; protein deglycosylation [GO:0006517]; protein quality control for misfolded or incompletely synthesized proteins [GO:0006515]	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; nucleus [GO:0005634]	metal ion binding [GO:0046872]; peptide-N4-(N-acetyl-beta-glucosaminyl)asparagine amidase activity [GO:0000224]
Tropomyosin beta chain (Beta-tropomyosin) (Tropomyosin-2)	A0A8I5ZTD5	Tpm2	actin filament organization	actin cytoskeleton [GO:0015629]; actin	actin binding [GO:0003779]; actin filament binding

			[GO:0007015]; muscle contraction [GO:0006936]; regulation of ATP-dependent activity [GO:0043462]	filament [GO:0005884]; cytoplasm [GO:0005737]	[GO:0051015]; identical protein binding [GO:0042802]; protein heterodimerization activity [GO:0046982]; protein homodimerization activity [GO:0042803]
ITPR interacting domain containing 2	A0A0G2K6G1; A0A8I6ASZ7	Itprid2			actin filament binding [GO:0051015]; signaling receptor binding [GO:0005102]
Kallikrein 1	G3V8G8	Klk1	positive regulation of acute inflammatory response [GO:0002675]; positive regulation of apoptotic process [GO:0043065]; positive regulation of cell population proliferation [GO:0008284]; proteolysis [GO:0006508]; response to nutrient [GO:0007584]	acrosomal vesicle [GO:0001669]; apical part of cell [GO:0045177]; nucleus [GO:0005634]	endopeptidase activity [GO:0004175]; serine-type endopeptidase activity [GO:0004252]
Kallikrein 1-related peptidase C8	A0A0G2JT54	Klk1c8	proteolysis [GO:0006508]		serine-type endopeptidase activity [GO:0004252]
Keratin 14	A0A0G2JXJ9	Ka11 Krt14 Krt15 Krt16 Krt19	aging [GO:0007568]; cytoskeleton organization [GO:0007010];	cornified envelope [GO:0001533]; cytoskeleton [GO:0005856];	structural constituent of cytoskeleton [GO:0005200]

			epithelial cell differentiation [GO:0030855]; establishment of skin barrier [GO:0061436]; hair cycle [GO:0042633]; inflammatory response [GO:0006954]; innate immune response [GO:0045087]; intermediate filament cytoskeleton organization [GO:0045104]; intermediate filament organization [GO:0045109]; keratinization [GO:0031424]; keratinocyte differentiation [GO:0030216]; keratinocyte migration [GO:0051546]; morphogenesis of an epithelium [GO:0002009]; negative regulation of	intermediate filament [GO:0005882]; keratin filament [GO:0045095]	

			cell migration [GO:0030336]		
Keratin 14	A0A8I6ACU5	Krt14 Ka11 Krt15 Krt16 Krt19	aging [GO:0007568]; cytoskeleton organization [GO:0007010]; epithelial cell differentiation [GO:0030855]; establishment of skin barrier [GO:0061436]; hair cycle [GO:0042633]; inflammatory response [GO:0006954]; innate immune response [GO:0045087]; intermediate filament cytoskeleton organization [GO:0045104]; intermediate filament organization [GO:0045109]; keratinization [GO:0031424]; keratinocyte differentiation [GO:0030216];	cornified envelope [GO:0001533]; cytoskeleton [GO:0005856]; intermediate filament [GO:0005882]; keratin filament [GO:0045095]	structural constituent of cytoskeleton [GO:0005200]

			keratinocyte migration [GO:0051546]; morphogenesis of an epithelium [GO:0002009]; negative regulation of cell migration [GO:0030336]		
Keratin 28	A0A0G2K2V6	Krt28	epithelial cell differentiation [GO:0030855]; hair follicle morphogenesis [GO:0031069]; intermediate filament organization [GO:0045109]	intermediate filament [GO:0005882]	structural molecule activity [GO:0005198]
Keratin 10	Q5BJY9	Krt10	keratinocyte differentiation [GO:0030216]; peptide cross-linking [GO:0018149]; protein heterotetramerization [GO:0051290]	cornified envelope [GO:0001533]; cytoplasm [GO:0005737]; keratin filament [GO:0045095]	protein heterodimerization activity [GO:0046982]; structural constituent of skin epidermis [GO:0030280]
Keratin, type I cytoskeletal 18 (Cytokeratin-18) (CK-18) (Keratin- 18) (K18)	A0A0G2JST3	Krt18 Krt1-18	cholangiocyte apoptotic process [GO:1902488]; extrinsic apoptotic signaling pathway [GO:0097191]; Golgi to plasma membrane	cell periphery [GO:0071944]; centriolar satellite [GO:0034451]; cytoplasm [GO:0005737];	scaffold protein binding [GO:0097110]; structural molecule activity [GO:0005198]

			protein transport [GO:0043001]; hepatocyte apoptotic process [GO:0097284]; hepatocyte differentiation [GO:0070365]; intermediate filament cytoskeleton organization [GO:0045104]; mesenchymal stem cell differentiation [GO:0072497]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; response to fructose [GO:0009750]; response to nutrient levels [GO:0031667]; tumor necrosis factor- mediated signaling pathway [GO:0033209]	external side of plasma membrane [GO:0009897]; extracellular space [GO:0005615]; intermediate filament [GO:0005882]; keratin filament [GO:0045095]; microtubule organizing center [GO:0005815]; nuclear matrix [GO:0016363]; nucleolus [GO:0005730]; perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]; plasma membrane [GO:0005886]; protein- containing complex [GO:0032991]	
Keratin, type II cytoskeletal 1 (Cytokeratin-1) (Keratin-1) (Type-II keratin Kb1)	A0A0G2JXH6	Krt1	complement activation, lectin pathway [GO:0001867]; establishment of skin barrier [GO:0061436];	cornified envelope [GO:0001533]; cytoplasm [GO:0005737]; keratin filament [GO:0045095]	carbohydrate binding [GO:0030246]; protein heterodimerization activity [GO:0046982]; structural constituent of skin epidermis

			negative regulation of inflammatory response [GO:0050728]; peptide cross-linking [GO:0018149]; protein heterotetramerization [GO:0051290]		[GO:0030280]
Keratin 73	A0A8I6G4D8	Krt73		keratin filament [GO:0045095]	
Keratin 8	A0A0G2JVQ5	Krt8		keratin filament [GO:0045095]	
Kininogen 2	A0A8I5ZQY2	Kng2 Kng2l1	blood coagulation [GO:0007596]; inflammatory response [GO:0006954]; vasodilation [GO:0042311]	extracellular space [GO:0005615]	cysteine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004869]
KN motif and ankyrin repeat domains 1	A0A0G2JTC5	Kank1	actin cytoskeleton organization [GO:0030036]; cell population proliferation [GO:0008283]; negative regulation of actin filament polymerization [GO:0030837]; negative regulation of cell migration [GO:0030336];	cytoplasm [GO:0005737]; cytoskeleton [GO:0005856]; nucleus [GO:0005634]; ruffle membrane [GO:0032587]	beta-catenin binding [GO:0008013]

			negative regulation of insulin receptor signaling pathway [GO:0046627]; negative regulation of lamellipodium morphogenesis [GO:2000393]; negative regulation of neuron projection development [GO:0010977]; negative regulation of Rho protein signal transduction [GO:0035024]; negative regulation of ruffle assembly [GO:1900028]; negative regulation of substrate adhesion-dependent cell spreading [GO:1900025]; podocyte cell migration [GO:0090521]; positive regulation of canonical Wnt signaling pathway [GO:0090263]; positive		

			regulation of Wnt signaling pathway [GO:0030177]; positive regulation of wound healing [GO:0090303]; regulation of establishment of cell polarity [GO:2000114]; regulation of Rho protein signal transduction [GO:0035023]		
Lamin A/C	A0A8I6AIN1; P51886; A0A8I6AIN1	Lmna		intermediate filament [GO:0005882]; nuclear envelope [GO:0005635]; nuclear lamina [GO:0005652]	
Lumican	A0A8I6A2K4	Lum			
Lysine-rich coiled-coil 1	A0A8I6ABC9	Krcc1			
Malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37)	A0A8I6ANW0	Mdh2	malate metabolic process [GO:0006108]; tricarboxylic acid cycle [GO:0006099]		L-malate dehydrogenase activity [GO:0030060]
Acyl-CoA synthetase family member 2	A0A8I5XW81	Acsf2	lipid metabolic process [GO:0006629]		catalytic activity [GO:0003824]
Membrane-bound transcription factor peptidase, site 1	P30120	Mbtps1	proteolysis [GO:0006508]	membrane [GO:0016020]	serine-type endopeptidase activity [GO:0004252]
Metalloproteinase inhibitor 1 (Tissue	A0A0G2JWA8	Timp1 Timp-1	aging [GO:0007568];	basement membrane	cytokine activity [GO:0005125];

inhibitor of metalloproteinases 1) (TIMP-1)			cartilage development [GO:0051216]; cell activation [GO:0001775]; cellular response to UV-A [GO:0071492]; connective tissue replacement involved in inflammatory response wound healing [GO:0002248]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; negative regulation of catalytic activity [GO:0043086]; negative regulation of endopeptidase activity [GO:0010951]; negative regulation of membrane protein ectodomain proteolysis [GO:0051045]; negative regulation of metallopeptidase activity [GO:1905049]; negative regulation of trophoblast cell	[GO:0005604]; extracellular matrix [GO:0031012]; extracellular space [GO:0005615]	growth factor activity [GO:0008083]; metalloendopeptidase inhibitor activity [GO:0008191]; peptidase inhibitor activity [GO:0030414]; protease binding [GO:0002020]; zinc ion binding [GO:0008270]

			migration [GO:1901164]; positive regulation of cell population proliferation [GO:0008284]; regulation of integrin-mediated signaling pathway [GO:2001044]; response to cytokine [GO:0034097]; response to hormone [GO:0009725]; response to organic substance [GO:0010033]; response to peptide hormone [GO:0043434]; steroid biosynthetic process [GO:0006694]; wound healing [GO:0042060]		
Microtubule-actin crosslinking factor 1	A0A0G2K9L9	Macf1	intermediate filament cytoskeleton organization [GO:0045104]	cell projection [GO:0042995]; cytoplasm [GO:0005737]; membrane [GO:0016020]; microtubule	actin binding [GO:0003779]; calcium ion binding [GO:0005509]; microtubule binding [GO:0008017]

				[GO:0005874]	
Midasin	A0A096MK30	Mdn1	ribosomal large subunit assembly [GO:0000027]; ribosomal large subunit export from nucleus [GO:0000055]	cytosol [GO:0005829]; intermediate filament cytoskeleton [GO:0045111]; nucleolus [GO:0005730]; nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]; preribosome, large subunit precursor [GO:0030687]	ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]
Moesin	A0A1W2Q693	Msn		cell projection [GO:0042995]; cytoplasm [GO:0005737]; cytoskeleton [GO:0005856]; plasma membrane [GO:0005886]	actin binding [GO:0003779]
Molybdenum cofactor sulfurase (MCS) (MOS) (MoCo sulfurase) (EC 2.8.1.9) (Molybdenum cofactor sulfurtransferase)	Q63691	Mocos MOCOS	Mo-molybdopterin cofactor biosynthetic process [GO:0006777]; molybdopterin cofactor metabolic process [GO:0043545]		lyase activity [GO:0016829]; Mo-molybdopterin cofactor sulfurase activity [GO:0008265]; molybdenum cofactor sulfurtransferase activity [GO:0102867]; molybdenum ion binding [GO:0030151]; pyridoxal phosphate binding

					[GO:0030170]
Monocyte differentiation antigen CD14 (Myeloid cell-specific leucine-rich glycoprotein) (CD antigen CD14)	A0A0G2JUP5	Cd14	cell surface pattern recognition receptor signaling pathway [GO:0002752]; cellular response to diacyl bacterial lipopeptide [GO:0071726]; cellular response to lipopolysaccharide [GO:0071222]; cellular response to lipoteichoic acid [GO:0071223]; cellular response to molecule of bacterial origin [GO:0071219]; cellular response to triacyl bacterial lipopeptide [GO:0071727]; inflammatory response [GO:0006954]; innate immune response [GO:0045087]; lipopolysaccharide-mediated signaling pathway [GO:0031663]; positive regulation of cytokine	cell surface [GO:0009986]; external side of plasma membrane [GO:0009897]; extracellular space [GO:0005615]; Golgi apparatus [GO:0005794]; lipopolysaccharide receptor complex [GO:0046696]; membrane raft [GO:0045121]; plasma membrane [GO:0005886]	lipopeptide binding [GO:0071723]; lipopolysaccharide binding [GO:0001530]; lipopolysaccharide immune receptor activity [GO:0001875]; lipoteichoic acid binding [GO:0070891]; molecular adaptor activity [GO:0060090]

			production [GO:0001819]; positive regulation of endocytosis [GO:0045807]; positive regulation of interleukin-8 production [GO:0032757]; positive regulation of lipopolysaccharide- mediated signaling pathway [GO:0031666]; positive regulation of NIK/NF- kappaB signaling [GO:1901224]; positive regulation of toll-like receptor 4 signaling pathway [GO:0034145]; positive regulation of tumor necrosis factor production [GO:0032760]; positive regulation of type I interferon production [GO:0032481]; positive regulation of type II		

			interferon production [GO:0032729]; receptor-mediated endocytosis [GO:0006898]; response to bacterium [GO:0009617]; response to electrical stimulus [GO:0051602]; response to ethanol [GO:0045471]; response to heat [GO:0009408]; response to lipopolysaccharide [GO:0032496]; response to magnesium ion [GO:0032026]; response to molecule of bacterial origin [GO:0002237]; response to tumor necrosis factor [GO:0034612]; toll-like receptor 4 signaling pathway [GO:0034142]		
Murinoglobulin 1	A0A0G2K9Q2	Mug1	negative regulation of peptidase activity	extracellular space [GO:0005615]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]

			[GO:0010466]		
Muskelin	A0A0G2K3H1	Mkln1	actin cytoskeleton reorganization [GO:0031532]; cell-matrix adhesion [GO:0007160]; regulation of cell shape [GO:0008360]	cell cortex [GO:0005938]; cytosol [GO:0005829]; nucleoplasm [GO:0005654]; ruffle [GO:0001726]; ubiquitin ligase complex [GO:0000151]	identical protein binding [GO:0042802]
Myosin heavy chain 14	A0A0G2JWE1	Myh14	actin filament-based movement [GO:0030048]; actomyosin structure organization [GO:0031032]; mitochondrion morphogenesis [GO:0070584]; neuronal action potential [GO:0019228]; sensory perception of sound [GO:0007605]; skeletal muscle contraction [GO:0003009]; skeletal muscle tissue development [GO:0007519]; vocalization behavior	actomyosin [GO:0042641]; axon [GO:0030424]; brush border [GO:0005903]; cytoplasm [GO:0005737]; growth cone [GO:0030426]; myosin complex [GO:0016459]; myosin filament [GO:0032982]; myosin II complex [GO:0016460]; myosin II filament [GO:0097513]; stress fiber [GO:0001725]	actin filament binding [GO:0051015]; ATP binding [GO:0005524]; microfilament motor activity [GO:0000146]; molecular adaptor activity [GO:0060090]

			[GO:0071625]		
Myosin light chain 6	A0A0G2K6S9	LOC685883 Myl6		brush border [GO:0005903]; myosin II complex [GO:0016460]; unconventional myosin complex [GO:0016461]	calcium ion binding [GO:0005509]; structural constituent of muscle [GO:0008307]
Myosin heavy chain 11	A0A8I6A145	Myh11	cardiac muscle cell development [GO:0055013]; elastic fiber assembly [GO:0048251]	myosin complex [GO:0016459]	actin filament binding [GO:0051015]; ATP binding [GO:0005524]; cytoskeletal motor activity [GO:0003774]; structural constituent of muscle [GO:0008307]
N(alpha)-acetyltransferase 15, NatA auxiliary subunit	A0A0G2KA71	Naa15	N-terminal peptidyl-methionine acetylation [GO:0017196]; N-terminal protein amino acid acetylation [GO:0006474]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; positive regulation of DNA-templated transcription [GO:0045893]; protein stabilization [GO:0050821]	cytoplasm [GO:0005737]; NatA complex [GO:0031415]; nucleus [GO:0005634]; transcription regulator complex [GO:0005667]	N-acetyltransferase activity [GO:0008080]; ribosome binding [GO:0043022]
Nectin cell adhesion molecule 2	A0A0H2UHX5	Nectin2 Pvr12	acrosome assembly [GO:0001675];	apical junction complex [GO:0043296]; cell	cell adhesion molecule binding [GO:0050839]; identical protein

			adhesion of symbiont to host [GO:0044406]; cell part morphogenesis [GO:0032990]; cilium organization [GO:0044782]; coreceptor-mediated virion attachment to host cell [GO:0046814]; cytoskeleton organization [GO:0007010]; establishment of localization in cell [GO:0051649]; establishment of mitochondrion localization [GO:0051654]; fertilization [GO:0009566]; fusion of virus membrane with host plasma membrane [GO:0019064]; homophilic cell adhesion via plasma membrane adhesion molecules	surface [GO:0009986]; cell-cell contact zone [GO:0044291]; cell-cell junction [GO:0005911]; membrane [GO:0016020]; plasma membrane [GO:0005886]; zonula adherens [GO:0005915]	binding [GO:0042802]; protein homodimerization activity [GO:0042803]

			[GO:0007156]; positive regulation of immunoglobulin mediated immune response [GO:0002891]; positive regulation of mast cell activation [GO:0033005]; positive regulation of natural killer cell mediated cytotoxicity [GO:0045954]; positive regulation of natural killer cell mediated cytotoxicity directed against tumor cell target [GO:0002860]; positive regulation of T cell receptor signaling pathway [GO:0050862]; regulation of viral entry into host cell [GO:0046596]; sperm mitochondrion organization [GO:0030382]; spermatid development		

			[GO:0007286]; spermatid nucleus differentiation [GO:0007289]; susceptibility to natural killer cell mediated cytotoxicity [GO:0042271]; susceptibility to T cell mediated cytotoxicity [GO:0060370]		
Neprilysin	A0A8I6ABC1	Mme	aging [GO:0007568]; amyloid-beta clearance by cellular catabolic process [GO:0150094]; amyloid-beta metabolic process [GO:0050435]; bradykinin catabolic process [GO:0010815]; cellular response to cytokine stimulus [GO:0071345]; cellular response to UV-A [GO:0071492]; cellular response to UV-B [GO:0071493]; creatinine metabolic process [GO:0046449]; hormone catabolic	axon [GO:0030424]; brush border [GO:0005903]; dendrite [GO:0030425]; early endosome [GO:0005769]; membrane raft [GO:0045121]; neuron projection terminus [GO:0044306]; neuronal cell body [GO:0043025]; plasma membrane [GO:0005886]; synaptic vesicle [GO:0008021]; trans- Golgi network	cardiolipin binding [GO:1901612]; exopeptidase activity [GO:0008238]; metalloendopeptidase activity [GO:0004222]; phosphatidylserine binding [GO:0001786]; protein homodimerization activity [GO:0042803]; zinc ion binding [GO:0008270]

			process [GO:0042447]; kidney development [GO:0001822]; learning or memory [GO:0007611]; neuropeptide processing [GO:0061837]; positive regulation of long-term synaptic potentiation [GO:1900273]; positive regulation of neurogenesis [GO:0050769]; replicative senescence [GO:0090399]; sensory perception of pain [GO:0019233]; substance P catabolic process [GO:0010814]	[GO:0005802]	
Nestin	A0A8I6AB61	Nes		intermediate filament [GO:0005882]	intermediate filament binding [GO:0019215]
Neurobeachin	O35095	Nbea	hematopoietic stem cell homeostasis [GO:0061484]; protein localization [GO:0008104]; regulation of neurotransmitter	cerebellar Golgi cell to granule cell synapse [GO:0099192]; cytosol [GO:0005829]; endomembrane system [GO:0012505]; extrinsic component of	protein kinase binding [GO:0019901]

			receptor localization to postsynaptic specialization membrane [GO:0098696]; synapse organization [GO:0050808]	postsynaptic membrane [GO:0098890]; GABA-ergic synapse [GO:0098982]; glutamatergic synapse [GO:0098978]; nucleus [GO:0005634]; plasma membrane [GO:0005886]; trans-Golgi network [GO:0005802]	
Neurochondrin (Neurite outgrowth-related protein from the rat brain) (Norbin)	Q5H8A2	Ncdn	bone resorption [GO:0045453]; neuron projection development [GO:0031175]; regulation of neuronal synaptic plasticity [GO:0048168]	cytosol [GO:0005829]; dendrite [GO:0030425]; endosome membrane [GO:0010008]; membrane [GO:0016020]; neuron projection [GO:0043005]; neuronal cell body [GO:0043025]; perikaryon [GO:0043204]; postsynapse [GO:0098794]	
Neuromedin-S	A0A8I5ZLS9	Nms	locomotor rhythm [GO:0045475]; neuropeptide signaling	extracellular region [GO:0005576]	G protein-coupled receptor binding [GO:0001664]

			pathway [GO:0007218]		
non-specific protein-tyrosine kinase (EC 2.7.10.2)	D3Z837	Ptk2b	angiogenesis [GO:0001525]; positive regulation of cell population proliferation [GO:0008284]; protein phosphorylation [GO:0006468]; regulation of cellular component organization [GO:0051128]; regulation of multicellular organismal process [GO:0051239]; response to stimulus [GO:0050896]; signal complex assembly [GO:0007172]	cell cortex [GO:0005938]; cell projection [GO:0042995]; cytoskeleton [GO:0005856]; focal adhesion [GO:0005925]; plasma membrane [GO:0005886]	ATP binding [GO:0005524]; protein tyrosine kinase activity [GO:0004713]
non-specific serine/threonine protein kinase (EC 2.7.11.1)	D3ZPN1	Cdc42bpg	actomyosin structure organization [GO:0031032]; peptidyl-threonine phosphorylation [GO:0018107]; protein phosphorylation [GO:0006468]	cell leading edge [GO:0031252]; centriolar satellite [GO:0034451]; cytoplasm [GO:0005737]; cytoskeleton [GO:0005856]; cytosol [GO:0005829]	ATP binding [GO:0005524]; magnesium ion binding [GO:0000287]; protein serine/threonine kinase activity [GO:0004674]

NPR2-like, GATOR1 complex subunit	A0A8I6AG13	Nprl2	cellular response to amino acid starvation [GO:0034198]; negative regulation of kinase activity [GO:0033673]; negative regulation of TOR signaling [GO:0032007]; negative regulation of TORC1 signaling [GO:1904262]; positive regulation of autophagy [GO:0010508]	GATOR1 complex [GO:1990130]; lysosomal membrane [GO:0005765]; vacuolar membrane [GO:0005774]	GTPase activator activity [GO:0005096]; protein kinase activity [GO:0004672]
NRDE-2, necessary for RNA interference, domain containing	A0A8I6GHJ0	Nrde2	DNA damage response [GO:0006974]; mitotic cell cycle [GO:0000278]; mRNA stabilization [GO:0048255]; negative regulation of RNA catabolic process [GO:1902369]; positive regulation of RNA export from nucleus [GO:0046833]; RNA splicing [GO:0008380]; small ncRNA-mediated heterochromatin	nuclear speck [GO:0016607]; nucleolus [GO:0005730]; nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]	

			formation [GO:0031048]		
Nucleobindin 2	P10111; A0A0G2K1P0	Nucb2		Golgi apparatus [GO:0005794]	calcium ion binding [GO:0005509]
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A (PPIase A) (EC 5.2.1.8) (Cyclophilin A) (Cyclosporin A-binding protein) (Rotamase A) (p1B15) (p31) [Cleaved into: Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A, N-terminally processed]	A0A8I6A629	Ppia	activation of protein kinase B activity [GO:0032148]; apoptotic process [GO:0006915]; cell adhesion molecule production [GO:0060352]; cellular response to oxidative stress [GO:0034599]; endothelial cell activation [GO:0042118]; leukocyte chemotaxis [GO:0030595]; lipid droplet organization [GO:0034389]; negative regulation of oxidative stress-induced intrinsic apoptotic signaling pathway [GO:1902176]; negative regulation of phosphoprotein	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; extracellular region [GO:0005576]; extracellular space [GO:0005615]; nucleus [GO:0005634]; protein-containing complex [GO:0032991]	cyclosporin A binding [GO:0016018]; heparan sulfate binding [GO:1904399]; integrin binding [GO:0005178]; peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity [GO:0003755]

			phosphatase activity [GO:0032515]; negative regulation of protein K48-linked ubiquitination [GO:0061944]; negative regulation of protein kinase activity [GO:0006469]; negative regulation of protein phosphorylation [GO:0001933]; negative regulation of stress-activated MAPK cascade [GO:0032873]; negative regulation of viral life cycle [GO:1903901]; neuron differentiation [GO:0030182]; neutrophil chemotaxis [GO:0030593]; platelet activation [GO:0030168]; platelet aggregation [GO:0070527]; positive regulation of MAPK cascade [GO:0043410]; positive regulation of		

			NF-kappaB transcription factor activity [GO:0051092]; positive regulation of protein dephosphorylation [GO:0035307]; positive regulation of protein phosphorylation [GO:0001934]; positive regulation of protein secretion [GO:0050714]; positive regulation of viral genome replication [GO:0045070]; protein folding [GO:0006457]; protein peptidyl-prolyl isomerization [GO:0000413]; regulation of apoptotic signaling pathway [GO:2001233]; regulation of viral genome replication [GO:0045069]		
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (PPIase) (EC 5.2.1.8)	A0A8I6GG55	LOC100911252	protein folding [GO:0006457]; protein peptidyl-prolyl		peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity [GO:0003755]

			isomerization [GO:0000413]		
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (PPIase) (EC 5.2.1.8)	A0A0G2K3Z9	Ppib	protein folding [GO:0006457]; protein peptidyl-prolyl isomerization [GO:0000413]		peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity [GO:0003755]
Peroxiredoxin-1 (EC 1.11.1.24)	A0A0G2JSH9	Prdx11	cell redox homeostasis [GO:0045454]; hydrogen peroxide catabolic process [GO:0042744]; leukocyte activation [GO:0045321]; removal of superoxide radicals [GO:0019430]; response to oxidative stress [GO:0006979]	cytosol [GO:0005829]	thioredoxin peroxidase activity [GO:0008379]
Peroxiredoxin 2	A0A0G2JSS8	Prdx2	defense response to tumor cell [GO:0002357]; extrinsic apoptotic signaling pathway [GO:0097191]; hydrogen peroxide catabolic process [GO:0042744]; negative regulation of extrinsic apoptotic		thioredoxin peroxidase activity [GO:0008379]

			signaling pathway in absence of ligand [GO:2001240]; negative regulation of lipopolysaccharide- mediated signaling pathway [GO:0031665]; negative regulation of NF-kappaB transcription factor activity [GO:0032088]; negative regulation of T cell differentiation [GO:0045581]; positive regulation of blood coagulation [GO:0030194]; positive regulation of MAPK cascade [GO:0043410]; regulation of hydrogen peroxide metabolic process [GO:0010310]; removal of superoxide radicals [GO:0019430]; respiratory burst involved in inflammatory response [GO:0002536];		

			response to lipopolysaccharide [GO:0032496]; T cell homeostasis [GO:0043029]; T cell proliferation [GO:0042098]; thymus development [GO:0048538]		
Peroxiredoxin-5 (EC 1.11.1.24)	D3ZGV2	Prdx5	cellular response to reactive oxygen species [GO:0034614]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; negative regulation of transcription by RNA polymerase III [GO:0016480]	cytoplasmic vesicle [GO:0031410]; cytosol [GO:0005829]; mitochondrion [GO:0005739]; nucleus [GO:0005634]; perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]; peroxisomal matrix [GO:0005782]	cysteine-type endopeptidase inhibitor activity involved in apoptotic process [GO:0043027]; RNA polymerase III transcription regulatory region sequence-specific DNA binding [GO:0001016]; thioredoxin peroxidase activity [GO:0008379]
Peroxisomal membrane protein PEX16	A0A8I5XW51	Pex16	ER-dependent peroxisome localization [GO:0106101]; ER-dependent peroxisome organization [GO:0032581]; peroxisome membrane biogenesis [GO:0016557];	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; peroxisomal membrane [GO:0005778]; peroxisome [GO:0005777]	

			peroxisome organization [GO:0007031]; protein import into peroxisome matrix [GO:0016558]; protein import into peroxisome membrane [GO:0045046]; protein targeting to peroxisome [GO:0006625]; protein to membrane docking [GO:0022615]		
Phosphatase and actin regulator	A0A8I5ZLC1	Phactr1			actin binding [GO:0003779]; protein phosphatase inhibitor activity [GO:0004864]
Phosphatidylethanolamine binding protein 1	A0A8I5ZM70	Pebp1			
Phosphodiesterase (EC 3.1.4.-)	A0A8I5ZZJ4	Pde1c	signal transduction [GO:0007165]		3',5'-cyclic-nucleotide phosphodiesterase activity [GO:0004114]; calmodulin binding [GO:0005516]; metal ion binding [GO:0046872]
Phosphodiesterase (EC 3.1.4.-)	A0A8I6AR18	Pde4a	cAMP catabolic process [GO:0006198]; signal transduction [GO:0007165]		3',5'-cyclic-nucleotide phosphodiesterase activity [GO:0004114]; metal ion binding [GO:0046872]
phosphopyruvate hydratase (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate	A0A8I5YC61	Eno1	glycolytic process [GO:0006096]	phosphopyruvate hydratase complex	magnesium ion binding [GO:0000287];

hydro-lyase)				[GO:0000015]	phosphopyruvate hydratase activity [GO:0004634]
phosphopyruvate hydratase (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate hydro-lyase)	D4AE81	Eno1-ps20	glycolytic process [GO:0006096]	phosphopyruvate hydratase complex [GO:0000015]	magnesium ion binding [GO:0000287]; phosphopyruvate hydratase activity [GO:0004634]
Pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G1	A0A096MK99	Plekhg1		nucleoplasm [GO:0005654]	guanyl-nucleotide exchange factor activity [GO:0005085]; small GTPase binding [GO:0031267]
Poly [ADP-ribose] polymerase (PARP) (EC 2.4.2.-)	A0A8I5ZYW6	Parp4 Mphosph8	cell death [GO:0008219]; inflammatory response [GO:0006954]; protein modification process [GO:0036211]; regulation of telomerase activity [GO:0051972]	cytoplasm [GO:0005737]; nucleus [GO:0005634]; spindle microtubule [GO:0005876]	enzyme binding [GO:0019899]; NAD+ ADP-ribosyltransferase activity [GO:0003950]; NAD+-protein ADP-ribosyltransferase activity [GO:1990404]; nucleotidyltransferase activity [GO:0016779]
Polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase (EC 2.4.1.-) (Protein-UDP acetylgalactosaminyltransferase)	A0A0A0MY13	Galnt16	protein O-linked glycosylation via threonine [GO:0018243]	Golgi membrane [GO:0000139]	carbohydrate binding [GO:0030246]; polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase activity [GO:0004653]
G protein-coupled receptor 158	Q32PZ9	Gpr158	protein localization to plasma membrane [GO:0072659]	plasma membrane [GO:0005886]	G protein-coupled receptor activity [GO:0004930]
Probable splicing factor YJU2B (Coiled-coil domain-containing	A0A8L2QLQ0	Yju2b Ccdc130	mRNA splicing, via spliceosome	post-mRNA release spliceosomal complex	

protein 130)			[GO:0000398]; response to virus [GO:0009615]; RNA splicing [GO:0008380]	[GO:0071014]; U2- type spliceosomal complex [GO:0005684]	
Probasin	A0A0G2KAF5	Pbsn		extracellular region [GO:0005576]	small molecule binding [GO:0036094]
Pro-epidermal growth factor	A0A8I6AKB2	Egf LOC100910178	angiogenesis [GO:0001525]; epidermal growth factor receptor signaling pathway via MAPK cascade [GO:0038029]; ERBB2-EGFR signaling pathway [GO:0038134]; ERK1 and ERK2 cascade [GO:0070371]; negative regulation of secretion [GO:0051048]; positive regulation of canonical Wnt signaling pathway [GO:0090263]; positive regulation of DNA replication [GO:0045740]; positive regulation of DNA- templated transcription	extracellular exosome [GO:0070062]; membrane [GO:0016020]	calcium ion binding [GO:0005509]; growth factor activity [GO:0008083]; guanyl- nucleotide exchange factor activity [GO:0005085]; transmembrane receptor protein tyrosine kinase activator activity [GO:0030297]

			[GO:0045893]; positive regulation of endothelial cell migration [GO:0010595]; positive regulation of endothelial cell proliferation [GO:0001938]; positive regulation of epidermal growth factor-activated receptor activity [GO:0045741]; positive regulation of epithelial tube formation [GO:1905278]; positive regulation of gene expression [GO:0010628]; positive regulation of hyaluronan biosynthetic process [GO:1900127]; positive regulation of MAP kinase activity [GO:0043406]; positive regulation of mitotic nuclear division [GO:0045840]; positive		

			regulation of peptidyl-threonine phosphorylation [GO:0010800]; positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling [GO:0014068]; positive regulation of protein kinase B signaling [GO:0051897]; positive regulation of protein localization to early endosome [GO:1902966]; positive regulation of receptor internalization [GO:0002092]; regulation of calcium ion import [GO:0090279]; regulation of protein localization to cell surface [GO:2000008]		
Profilin	Q9EQP5	Pfn1	actin cytoskeleton organization [GO:0030036]		actin binding [GO:0003779]
Prolargin (Proline-arginine-rich end leucine-rich repeat protein)	A0A8I5YCB0	Prep1	cellular senescence [GO:0090398]	extracellular matrix [GO:0031012];	heparin binding [GO:0008201]

				extracellular space [GO:0005615]	
Proline rich protein 2-like 1	A0A0G2K176	Prp2l1		membrane [GO:0016020]	
Spermine binding protein	P02782	Sbp Zg16b			
Prostatic steroid-binding protein C1 (Prostatein peptide C1)	P02781	Psbpc1 Scgb1d2		extracellular region [GO:0005576]	steroid binding [GO:0005496]
Prostatic steroid-binding protein C2 (Prostatein peptide C2)	A0A0G2JSZ5	Psbpc2		extracellular region [GO:0005576]	steroid binding [GO:0005496]
Protein disulfide-isomerase A6 (EC 5.3.4.1)	A0A8I6A1R9	Pdia6		endoplasmic reticulum lumen [GO:0005788]; melanosome [GO:0042470]	protein disulfide isomerase activity [GO:0003756]
Protein disulfide-isomerase (EC 5.3.4.1)	A0A8I6GAH4; A0A0H2UHM5	P4hb		endoplasmic reticulum lumen [GO:0005788]	protein disulfide isomerase activity [GO:0003756]
Protein disulfide-isomerase (EC 5.3.4.1)	P05964	Pdia3		endoplasmic reticulum lumen [GO:0005788]	protein disulfide isomerase activity [GO:0003756]
Protein S100-A6 (Calcyclin) (Prolactin receptor-associated protein) (S100 calcium-binding protein A6)	P50115	S100a6 Cacy		cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; extrinsic component of cytoplasmic side of plasma membrane [GO:0031234]; nuclear envelope [GO:0005635]; nucleus [GO:0005634]; perinuclear region of	calcium ion binding [GO:0005509]; calcium- dependent protein binding [GO:0048306]; monoatomic ion transmembrane transporter activity [GO:0015075]; protein homodimerization activity [GO:0042803]; S100 protein binding [GO:0044548]; tropomyosin binding [GO:0005523]; zinc ion binding

				cytoplasm [GO:0048471]; ruffle [GO:0001726]	[GO:0008270]
Protein S100-A8 (Calgranulin-A) (Migration inhibitory factor-related protein 8) (MRP-8) (p8) (S100 calcium-binding protein A8)	A0A8I5ZWH4	S100a8 Mrp8	activation of cysteine- type endopeptidase activity involved in apoptotic process [GO:0006919]; acute inflammatory response [GO:0002526]; apoptotic process [GO:0006915]; astrocyte development [GO:0014002]; autocrine signaling [GO:0035425]; autophagy [GO:0006914]; chronic inflammatory response [GO:0002544]; inflammatory response [GO:0006954]; innate immune response [GO:0045087]; leukocyte migration involved in inflammatory response [GO:0002523]; neutrophil aggregation	cytosol [GO:0005829]; extracellular space [GO:0005615]; intermediate filament cytoskeleton [GO:0045111]; plasma membrane [GO:0005886]	antioxidant activity [GO:0016209]; calcium ion binding [GO:0005509]

			[GO:0070488]; neutrophil chemotaxis [GO:0030593]; peptide secretion [GO:0002790]; peptidyl-cysteine S- nitrosylation [GO:0018119]; positive regulation of inflammatory response [GO:0050729]; positive regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway [GO:2001244]; positive regulation of peptide secretion [GO:0002793]; response to ethanol [GO:0045471]; response to lipopolysaccharide [GO:0032496]; response to zinc ion [GO:0010043]; wound healing [GO:0042060]		
Unc-13 homolog A	A0A8I6A1G8	Unc13a	modulation of chemical synaptic transmission [GO:0050804];	cytoplasm [GO:0005737]; membrane	calcium ion binding [GO:0005509]; diacylglycerol binding [GO:0019992];

			synaptic vesicle exocytosis [GO:0016079]	[GO:0016020]; presynapse [GO:0098793]	phospholipid binding [GO:0005543]
protein-glutamine gamma-glutamyltransferase (EC 2.3.2.13)	A0A0G2JTL5	Tgm2	peptide cross-linking [GO:0018149]		metal ion binding [GO:0046872]; protein-glutamine gamma-glutamyltransferase activity [GO:0003810]
pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1)	A0A8I5Y2G5	Pc	gluconeogenesis [GO:0006094]; lipid metabolic process [GO:0006629]; NADH metabolic process [GO:0006734]; NADP metabolic process [GO:0006739]; negative regulation of gene expression [GO:0010629]; positive regulation by host of viral process [GO:0044794]; pyruvate metabolic process [GO:0006090]; viral release from host cell [GO:0019076]; viral RNA genome packaging [GO:0019074]	mitochondrion [GO:0005739]	ATP binding [GO:0005524]; identical protein binding [GO:0042802]; metal ion binding [GO:0046872]; pyruvate carboxylase activity [GO:0004736]

RAB GTPase activating protein 1	A0A0G2JT78	Rabgap1	regulation of GTPase activity [GO:0043087]		GTPase activator activity [GO:0005096]; small GTPase binding [GO:0031267]
RAB6B, member RAS oncogene family	A0A8I5ZSJ6	Rab6b	Golgi organization [GO:0007030]; intra-Golgi vesicle-mediated transport [GO:0006891]; intracellular protein transport [GO:0006886]; protein localization to Golgi membrane [GO:1903292]; retrograde transport, endosome to Golgi [GO:0042147]; retrograde vesicle-mediated transport, Golgi to endoplasmic reticulum [GO:0006890]	cytosol [GO:0005829]; endomembrane system [GO:0012505]; Golgi apparatus [GO:0005794]; Golgi membrane [GO:0000139]; presynapse [GO:0098793]	GTP binding [GO:0005525]; GTPase activity [GO:0003924]; myosin V binding [GO:0031489]
RBR-type E3 ubiquitin transferase (EC 2.3.2.31)	G3V9M0	Arih1	positive regulation of proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:0032436]; protein polyubiquitination [GO:0000209]; protein	cytoplasm [GO:0005737]; Lewy body [GO:0097413]; nuclear body [GO:0016604]; nucleus [GO:0005634]; ubiquitin ligase	ubiquitin conjugating enzyme binding [GO:0031624]; ubiquitin protein ligase activity [GO:0061630]; ubiquitin protein ligase binding [GO:0031625]; ubiquitin-protein transferase activity [GO:0004842]; zinc ion

			ubiquitination [GO:0016567]; ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:0006511]	complex [GO:0000151]	binding [GO:0008270]
Similar to Cystatin S precursor (LM protein)	A0A0G2JSZ2	Cyss1 LOC296235	negative regulation of cysteine-type endopeptidase activity [GO:2000117]	cytoplasm [GO:0005737]; extracellular space [GO:0005615]; vesicle [GO:0031982]	cysteine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004869]
Seminal vesicle secretory protein 4	D3ZJA4	Svs4		extracellular space [GO:0005615]	
Seminal vesicle secretory protein 6	G3V6S9	Svs6		extracellular space [GO:0005615]	
Zinc fingers and homeoboxes 1	A0A8I6A019	Zhx1	negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]	nucleoplasm [GO:0005654]	DNA binding [GO:0003677]; DNA-binding transcription factor activity [GO:0003700]; protein heterodimerization activity [GO:0046982]
receptor protein-tyrosine kinase (EC 2.7.10.1)	A0A8I6A5Y8	Epha5	protein phosphorylation [GO:0006468]	plasma membrane [GO:0005886]	ATP binding [GO:0005524]; ephrin receptor activity [GO:0005003]
Retinitis pigmentosa 1-like 1 protein- like	A0A0G2K617	LOC102548506			
RWD domain containing 4	D3Z9U8	Rwdd4			
S100 calcium binding protein A7 like 2	P02780	S100a7l2 RGD1562234		extracellular space [GO:0005615]; nucleus [GO:0005634];	S100 protein binding [GO:0044548]

				perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]	
Secretoglobin family 2A member 2 (C3.1) (Prostatein peptide C3) (Prostatic steroid-binding protein C3)	P00762	Scgb2a2 Psbpc3	androgen receptor signaling pathway [GO:0030521]	extracellular space [GO:0005615]	protein-containing complex binding [GO:0044877]; steroid binding [GO:0005496]
Serine protease 1 (EC 3.4.21.4) (Anionic trypsin I) (Anionic trypsin-1) (Beta-trypsin) (Cationic trypsinogen) (Pretrypsinogen I) (Trypsin I) (Trypsin-1)	P05545	Prss1 Trp1 Try1 Tryp1	digestion [GO:0007586]; proteolysis [GO:0006508]; response to caffeine [GO:0031000]; response to nicotine [GO:0035094]; response to nutrient [GO:0007584]; response to organic substance [GO:0010033]	extracellular space [GO:0005615]	metal ion binding [GO:0046872]; serine-type endopeptidase activity [GO:0004252]
Serine protease inhibitor A3K (SerpA3K) (CPI-21) (Contrapsin-like protease inhibitor 1) (GHR-P63) (Growth hormone-regulated proteinase inhibitor) (Kallikrein-binding protein) (KBP) (SPI-2.3) (Serine protease inhibitor 2) (SPI-2) (Thyroid hormone-regulated protein)	A0A0G2JXK5	Serpina3k Spin2b	negative regulation of endopeptidase activity [GO:0010951]	extracellular space [GO:0005615]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]
Serine protease inhibitor A3N	A0A0G2K2M9	Serpina3l LOC299282 Serpina3n		extracellular space [GO:0005615]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]

Serine/arginine repetitive matrix 2	A0A8I6A6H8	Srrm2	mRNA splicing, via spliceosome [GO:0000398]	Cajal body [GO:0015030]; catalytic step 2 spliceosome [GO:0071013]; nucleus [GO:0005634]; U2-type catalytic step 2 spliceosome [GO:0071007]; U2-type precatalytic spliceosome [GO:0071005]	C2H2 zinc finger domain binding [GO:0070742]; mRNA binding [GO:0003729]
Serpin family B member 6A	Q7TMC7	Serpinb6a	cellular response to osmotic stress [GO:0071470]; negative regulation of endopeptidase activity [GO:0010951]; sensory perception of sound [GO:0007605]	cytoplasm [GO:0005737]; extracellular space [GO:0005615]; serine protease inhibitor complex [GO:0097180]	protease binding [GO:0002020]; serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]
Signal recognition particle receptor subunit beta	A0A0G2JYF6	Tf		endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; extracellular region [GO:0005576]	GTP binding [GO:0005525]
Similar to Dermal papilla derived protein 7	A0A8I5ZKE5	Tmem45a2 RGD1310935		membrane [GO:0016020]	
Similar to OTTMUSP00000000636	A0A8I6A1Y5	RGD1564786		extracellular space [GO:0005615]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]

Similar to polyubiquitin	A0A8I6AIE0	LOC679594			
SLAIN motif family, member 2	A0A8I5ZLA1	Slain2	cytoplasmic microtubule organization [GO:0031122]; microtubule nucleation [GO:0007020]; positive regulation of microtubule polymerization [GO:0031116]; regulation of microtubule polymerization [GO:0031113]	microtubule cytoskeleton [GO:0015630]	
Sodium channel and clathrin linker 1	M0RA35	Sclt1	clustering of voltage-gated sodium channels [GO:0045162]		
Solute carrier family 35, member F3	A0A8I5ZV71	Slc35f3 LOC679321	thiamine transport [GO:0015888]	membrane [GO:0016020]	
Solute carrier organic anion transporter family member	A0A140UHX6	Slco5a1	monoatomic ion transport [GO:0006811]; sodium-independent organic anion transport [GO:0043252]	plasma membrane [GO:0005886]	sodium-independent organic anion transmembrane transporter activity [GO:0015347]
Spectrin beta chain	A0A8I6A7C6	Sptb	actin cytoskeleton organization	cell junction [GO:0030054]; cell	actin binding [GO:0003779]; actin filament binding

			[GO:0030036]; actin filament capping [GO:0051693]; hemopoiesis [GO:0030097]; modification of postsynaptic actin cytoskeleton [GO:0098885]; plasma membrane organization [GO:0007009]; porphyrin-containing compound biosynthetic process [GO:0006779]	projection [GO:0042995]; cortical actin cytoskeleton [GO:0030864]; cortical cytoskeleton [GO:0030863]; cytosol [GO:0005829]; glutamatergic synapse [GO:0098978]; membrane [GO:0016020]; plasma membrane [GO:0005886]; postsynapse [GO:0098794]; protein- containing complex [GO:0032991]; spectrin [GO:0008091]; spectrin-associated cytoskeleton [GO:0014731]	[GO:0051015]; ankyrin binding [GO:0030506]; structural constituent of cytoskeleton [GO:0005200]
Spermatogenesis associated 17	A0A8I6AGX4	Spata17	establishment of meiotic spindle localization [GO:0051295]; mitotic cell cycle [GO:0000278]; spindle organization [GO:0007051]	spindle pole [GO:0000922]	calmodulin binding [GO:0005516]

Sphingosine-1-phosphate phosphatase 2	A0A0U1RS26	Sgpp2	phospholipid dephosphorylation [GO:0046839]; regulation of type B pancreatic cell proliferation [GO:0061469]; sphingosine metabolic process [GO:0006670]	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]	sphingosine-1-phosphate phosphatase activity [GO:0042392]
STING ER exit protein	Q6IUU3	Steep1	endoplasmic reticulum membrane organization [GO:0090158]; endoplasmic reticulum to Golgi vesicle-mediated transport [GO:0006888]	cell body [GO:0044297]; cytoplasm [GO:0005737]; nucleus [GO:0005634]	
Sulfhydryl oxidase 1 (rQSOX) (rSOx) (EC 1.8.3.2) (FAD-dependent sulfhydryl oxidase-2) (SOx-2) (Quiescin Q6)	Q6AXR1	Qsox1 Qscn6 Sox2	extracellular matrix assembly [GO:0085029]; negative regulation of macroautophagy [GO:0016242]; protein folding [GO:0006457]	extracellular exosome [GO:0070062]; extracellular space [GO:0005615]; Golgi membrane [GO:0000139]; intercellular bridge [GO:0045171]	FAD binding [GO:0071949]; flavin-linked sulfhydryl oxidase activity [GO:0016971]; protein disulfide isomerase activity [GO:0003756]
TBC1 domain family, member 20	P11232	Tbc1d20	acrosome assembly [GO:0001675]; camera-type eye development [GO:0043010]; COPII-	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; Golgi	GTPase activator activity [GO:0005096]; small GTPase binding [GO:0031267]

			coated vesicle cargo loading [GO:0090110]; endoplasmic reticulum to Golgi vesicle- mediated transport [GO:0006888]; Golgi organization [GO:0007030]; lens development in camera-type eye [GO:0002088]; lens fiber cell morphogenesis [GO:0070309]; lipid droplet organization [GO:0034389]; male gonad development [GO:0008584]; positive regulation by host of viral genome replication [GO:0044829]; positive regulation by virus of viral protein levels in host cell [GO:0046726]; positive regulation of ER to Golgi vesicle-mediated transport	membrane [GO:0000139]; nuclear membrane [GO:0031965]	

			[GO:1902953]; positive regulation of GTPase activity [GO:0043547]; seminiferous tubule development [GO:0072520]; spermatogenesis [GO:0007283]; virion assembly [GO:0019068]		
Thioredoxin (Trx)	A0A8I5ZU30	Txn Txn1	cell redox homeostasis [GO:0045454]; cellular response to antibiotic [GO:0071236]; cellular response to glucose stimulus [GO:0071333]; cellular response to hyperoxia [GO:0071455]; cellular response to xenobiotic stimulus [GO:0071466]; negative regulation of hydrogen peroxide-induced cell death [GO:1903206]; negative regulation of protein export from nucleus [GO:0046826];	axon [GO:0030424]; cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; dendrite [GO:0030425]; extracellular region [GO:0005576]; neuronal cell body [GO:0043025]; nucleus [GO:0005634]	enzyme binding [GO:0019899]; protein homodimerization activity [GO:0042803]; protein-disulfide reductase (NAD(P)) activity [GO:0047134]; protein-disulfide reductase activity [GO:0015035]; thioredoxin-disulfide reductase activity [GO:0004791]

			negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]; positive regulation of DNA binding [GO:0043388]; positive regulation of peptidyl-cysteine S-nitrosylation [GO:2000170]; positive regulation of peptidyl-serine phosphorylation [GO:0033138]; response to activity [GO:0014823]; response to axon injury [GO:0048678]; response to dexamethasone [GO:0071548]; response to nitric oxide [GO:0071731]; response to radiation [GO:0009314]; response to selenium ion [GO:0010269]; response to thyroxine [GO:0097068]; response to xenobiotic		

			stimulus [GO:0009410]		
threonine--tRNA ligase (EC 6.1.1.3) (Threonyl-tRNA synthetase)	A0A8I6GBW4	Tars2	threonyl-tRNA aminoacylation [GO:0006435]	cytoplasm [GO:0005737]	ATP binding [GO:0005524]; threonine-tRNA ligase activity [GO:0004829]
Thyroid stimulating hormone receptor	A0A0G2K434	Tshr		membrane [GO:0016020]	thyroid-stimulating hormone receptor activity [GO:0004996]
Trafficking kinesin protein 2	A0A0G2JWK7	Trak2	anterograde dendritic transport of mitochondrion [GO:0098972]	dendrite cytoplasm [GO:0032839]; early endosome [GO:0005769]; mitochondrion [GO:0005739]	
Transgelin	P46462	Tagln			
Transitional endoplasmic reticulum ATPase (TER ATPase) (EC 3.6.4.6) (15S Mg(2+)-ATPase p97 subunit) (Valosin-containing protein) (VCP)	A0A8I5Y248	Vcp	activation of cysteine- type endopeptidase activity involved in apoptotic process [GO:0006919]; aggresome assembly [GO:0070842]; ATP metabolic process [GO:0046034]; autophagosome maturation [GO:0097352]; autophagy [GO:0006914]; cellular response to arsenite ion	ATPase complex [GO:1904949]; cytoplasm [GO:0005737]; cytoplasmic stress granule [GO:0010494]; cytosol [GO:0005829]; Derlin-1 retrotranslocation complex [GO:0036513]; endoplasmic reticulum [GO:0005783]; endoplasmic reticulum membrane	ADP binding [GO:0043531]; ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]; BAT3 complex binding [GO:1904288]; deubiquitinase activator activity [GO:0035800]; identical protein binding [GO:0042802]; K48- linked polyubiquitin modification-dependent protein binding [GO:0036435]; lipid binding [GO:0008289]; MHC class I protein binding [GO:0042288]; nucleic acid binding [GO:0003676];

		[GO:1903843]; cellular response to heat [GO:0034605]; DNA damage response [GO:0006974]; DNA repair [GO:0006281]; double-strand break repair [GO:0006302]; endoplasmic reticulum stress-induced pre-emptive quality control [GO:0061857]; endoplasmic reticulum to Golgi vesicle-mediated transport [GO:0006888]; endosome to lysosome transport via multivesicular body sorting pathway [GO:0032510]; ER-associated misfolded protein catabolic process [GO:0071712]; ERAD pathway [GO:0036503]; flavin adenine dinucleotide catabolic process [GO:0072389];	[GO:0005789]; glutamatergic synapse [GO:0098978]; intracellular membrane-bounded organelle [GO:0043231]; lipid droplet [GO:0005811]; nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]; perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]; proteasome complex [GO:0000502]; protein-containing complex [GO:0032991]; site of double-strand break [GO:0035861]; synapse [GO:0045202]; VCP-NPL4-UFD1 AAA ATPase complex [GO:0034098]; VCP-NSFL1C complex [GO:1990730]	polyubiquitin modification-dependent protein binding [GO:0031593]; protein domain specific binding [GO:0019904]; protein phosphatase binding [GO:0019903]; protein-containing complex binding [GO:0044877]; ubiquitin protein ligase binding [GO:0031625]; ubiquitin-dependent protein binding [GO:0140036]; ubiquitin-like protein ligase binding [GO:0044389]; ubiquitin-specific protease binding [GO:1990381]

			interstrand cross-link repair [GO:0036297]; macroautophagy [GO:0016236]; mitotic spindle disassembly [GO:0051228]; NADH metabolic process [GO:0006734]; negative regulation of protein localization to chromatin [GO:0120186]; negative regulation of smoothened signaling pathway [GO:0045879]; positive regulation of ATP biosynthetic process [GO:2001171]; positive regulation of canonical Wnt signaling pathway [GO:0090263]; positive regulation of Lys63- specific deubiquitinase activity [GO:1903007]; positive regulation of mitochondrial membrane potential [GO:0010918]; positive		

			regulation of oxidative phosphorylation [GO:1903862]; positive regulation of proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:0032436]; positive regulation of protein catabolic process [GO:0045732]; positive regulation of protein K63-linked deubiquitination [GO:1903006]; positive regulation of protein-containing complex assembly [GO:0031334]; positive regulation of ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:2000060]; proteasomal protein catabolic process [GO:0010498]; proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic		

			process [GO:0043161]; protein ubiquitination [GO:0016567]; protein-DNA covalent cross-linking repair [GO:0106300]; regulation of aerobic respiration [GO:1903715]; regulation of protein localization to chromatin [GO:1905634]; regulation of synapse organization [GO:0050807]; retrograde protein transport, ER to cytosol [GO:0030970]; stress granule disassembly [GO:0035617]; translesion synthesis [GO:0019985]; ubiquitin-dependent ERAD pathway [GO:0030433]; ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:0006511];		

			viral genome replication [GO:0019079]		
Trinucleotide repeat containing adaptor 6C	A0A8I5ZZV5	Tnrc6c	embryonic hemopoiesis [GO:0035162]; embryonic organ development [GO:0048568]; endoderm development [GO:0007492]; endoderm formation [GO:0001706]; lung saccule development [GO:0060430]; miRNA-mediated gene silencing [GO:0035195]; positive regulation of nuclear-transcribed mRNA catabolic process, deadenylation-dependent decay [GO:1900153]; positive regulation of nuclear-transcribed mRNA poly(A) tail shortening [GO:0060213]; regulation of miRNA-mediated gene	nucleoplasm [GO:0005654]; P-body [GO:0000932]	nucleic acid binding [GO:0003676]

			silencing [GO:0060964]; transforming growth factor beta receptor signaling pathway [GO:0007179]		
tRNA-uridine aminocarboxypropyltransferase (EC 2.5.1.25)	A0A8I6A156; A0A0G2JX64	Dtwd1	tRNA processing [GO:0008033]		transferase activity [GO:0016740]
Tropomyosin 1	A0A8I5ZN97	Tpm1		cytoskeleton [GO:0005856]	actin binding [GO:0003779]
Tubulin alpha chain	A0A8I5Y8E3	Tuba8	microtubule-based process [GO:0007017]	cytoplasm [GO:0005737]; microtubule [GO:0005874]	GTP binding [GO:0005525]; hydrolase activity [GO:0016787]; structural constituent of cytoskeleton [GO:0005200]
Tubulin beta chain	A0A8I5ZTA8	Tubb4b	microtubule-based process [GO:0007017]	cytoplasm [GO:0005737]; microtubule [GO:0005874]	GTP binding [GO:0005525]; GTPase activity [GO:0003924]; structural constituent of cytoskeleton [GO:0005200]
Ubiquitin B-like	A0A8I6G8I7	LOC100363494			
Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a (Ubiquitin carboxyl extension protein 80)	F8WGA2	Rps27a-ps2 Rps27a-ps3	translation [GO:0006412]	cytosol [GO:0005829]; ribonucleoprotein complex [GO:1990904]; ribosome [GO:0005840]	structural constituent of ribosome [GO:0003735]
Uncharacterized protein	A0A8I5YC74	Scgb2a1		extracellular region	

				[GO:0005576]	
Tropomyosin	A0A8I6GKZ2	ENSRNOG00000066004		cytoskeleton [GO:0005856]	actin binding [GO:0003779]
Uncharacterized protein	A0A8I5ZLB2	ENSRNOG00000070481		membrane [GO:0016020]	
Leucine-rich repeat-containing protein 37 N-terminal domain-containing protein	A0A8I6ARA8	ENSRNOG00000066876			
Unk like zinc finger	G3V8C3	Unkl			metal ion binding [GO:0046872]
Vimentin	A0A8I5ZUF9	Vim	astrocyte development [GO:0014002]; Bergmann glial cell differentiation [GO:0060020]; cellular response to lipopolysaccharide [GO:0071222]; cellular response to muramyl dipeptide [GO:0071225]; cellular response to type II interferon [GO:0071346]; intermediate filament organization [GO:0045109]; lens fiber cell development [GO:0070307];	cell leading edge [GO:0031252]; cytosol [GO:0005829]; intermediate filament [GO:0005882]; neuron projection [GO:0043005]; peroxisome [GO:0005777]; phagocytic vesicle [GO:0045335]; plasma membrane [GO:0005886]; polysome [GO:0005844]	double-stranded RNA binding [GO:0003725]; identical protein binding [GO:0042802]; keratin filament binding [GO:1990254]; protein domain specific binding [GO:0019904]; scaffold protein binding [GO:0097110]; structural constituent of cytoskeleton [GO:0005200]; structural constituent of eye lens [GO:0005212]

			negative regulation of neuron projection development [GO:0010977]; neuron projection development [GO:0031175]; positive regulation of collagen biosynthetic process [GO:0032967]; positive regulation of translation [GO:0045727]; regulation of mRNA stability [GO:0043488]; SMAD protein signal transduction [GO:0060395]		
Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	A0A8I5Y637	ENSRNOG00000069999		mitochondrial outer membrane [GO:0005741]; pore complex [GO:0046930]	nucleotide binding [GO:0000166]; porin activity [GO:0015288]; voltage-gated monoatomic anion channel activity [GO:0008308]
Zinc finger, SWIM-type containing 8	A0A8I5ZSP3	Zswim8	positive regulation of miRNA catabolic process [GO:2000627]; proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:0043161];	Cul2-RING ubiquitin ligase complex [GO:0031462]; Cul3-RING ubiquitin ligase complex [GO:0031463]; cullin-RING ubiquitin ligase	ubiquitin ligase-substrate adaptor activity [GO:1990756]; zinc ion binding [GO:0008270]

			protein ubiquitination [GO:0016567]; target- directed miRNA degradation [GO:0140958]	complex [GO:0031461]; cytosol [GO:0005829]	

1170 **Supplemental Table 3.**1171 Gene ontology of proteins extracted from seminal vesicle fluid of rats. Data obtained of UniprotKB (www.uniprot.org).

Protein Name	ID	Gene	Gene Ontology		
			Biological Process	Biological Process	Biological Process
[histone H4]-N-methyl-L-lysine20 N-methyltransferase KMT5B (EC 2.1.1.361) (EC 2.1.1.362) ([histone H4]-lysine20 N-methyltransferase KMT5B)	A0A8I6G6N5	Kmt5b	muscle organ development [GO:0007517]	chromosome [GO:0005694]; nucleus [GO:0005634]	histone H4K20 methyltransferase activity [GO:0042799]; metal ion binding [GO:0046872]
26S proteasome regulatory subunit 7 (26S proteasome AAA-ATPase subunit RPT1) (Proteasome 26S subunit ATPase 2)	G3V7L6	Psmc2	ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:0006511]	cytoplasmic ribonucleoprotein granule [GO:0036464]; cytosol [GO:0005829]; proteasome complex [GO:0000502]	ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]; proteasome-activating activity [GO:0036402]
3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase (HIB-CoA hydrolase) (HIBYL-CoA-H) (EC 3.1.2.4) (3-hydroxyisobutyryl-coenzyme A hydrolase)	A0A8I5ZL23	Hibch	valine catabolic process [GO:0006574]	mitochondrion [GO:0005739]	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase activity [GO:0003860]
40S ribosomal protein S23	A0A8I5Y0L2	ENSRNOG00000066674	translation [GO:0006412]	small ribosomal subunit [GO:0015935]	structural constituent of ribosome [GO:0003735]

Actin, beta	A0A0G2K3K2	Actb	adherens junction assembly [GO:0034333]; apical protein localization [GO:0045176]; cell motility [GO:0048870]; cellular response to cytochalasin B [GO:0072749]; establishment or maintenance of cell polarity [GO:0007163]; morphogenesis of a polarized epithelium [GO:0001738]; positive regulation of double-strand break repair via homologous recombination [GO:1905168]; protein localization to adherens junction	adherens junction [GO:0005912]; apical junction complex [GO:0043296]; brush border [GO:0005903]; calyx of Held [GO:0044305]; cortical cytoskeleton [GO:0030863]; cytoplasmic ribonucleoprotein granule [GO:0036464]; cytosol [GO:0005829]; glutamatergic synapse [GO:0098978]; lamellipodium [GO:0030027]; NuA4 histone acetyltransferase complex [GO:0035267];	identical protein binding [GO:0042802]; kinesin binding [GO:0019894]; nitric-oxide synthase binding [GO:0050998]; protein kinase binding [GO:0019901]; structural constituent of postsynaptic actin cytoskeleton [GO:0098973]; Tat protein binding [GO:0030957]

			[GO:0071896]; regulation of cell cycle [GO:0051726]; regulation of norepinephrine uptake [GO:0051621]; regulation of protein localization to plasma membrane [GO:1903076]; regulation of synaptic vesicle endocytosis [GO:1900242]; regulation of transepithelial transport [GO:0150111]	nucleosome [GO:0000786]; nucleus [GO:0005634]; postsynaptic actin cytoskeleton [GO:0098871]; ribonucleoprotein complex [GO:1990904]; Schaffer collateral - CA1 synapse [GO:0098685]; tight junction [GO:0070160]	
Acyl-CoA thioesterase 13	D3ZA93	Acot13	negative regulation of cold-induced thermogenesis [GO:0120163]; protein homotetramerization [GO:0051289]	mitochondrial matrix [GO:0005759]; mitochondrion [GO:0005739]	acyl-CoA hydrolase activity [GO:0047617]

ADAM metallopeptidase domain 18	F1LRY9	Adam18	proteolysis [GO:0006508]	membrane [GO:0016020]	metalloendopeptidase activity [GO:0004222]
ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 19	D4A2E7	Adamts19	extracellular matrix organization [GO:0030198]; proteolysis [GO:0006508]	extracellular region [GO:0005576]	metal ion binding [GO:0046872]; metalloendopeptidase activity [GO:0004222]
Adenylate cyclase type 1 (EC 4.6.1.1)	D4A3N4	Adcy1	adenylate cyclase-activating G protein-coupled receptor signaling pathway [GO:0007189]; axonogenesis [GO:0007409]; cAMP biosynthetic process [GO:0006171]; circadian rhythm [GO:0007623]; intracellular signal transduction [GO:0035556]; long-term memory [GO:0007616]; modulation of chemical synaptic	cytoplasm [GO:0005737]; glutamatergic synapse [GO:0098978]; hippocampal mossy fiber to CA3 synapse [GO:0098686]; plasma membrane [GO:0005886]; postsynaptic density [GO:0014069]; postsynaptic density membrane [GO:0098839]; presynapse [GO:0098793]; Schaffer collateral - CA1 synapse	adenylate cyclase activity [GO:0004016]; ATP binding [GO:0005524]; calcium- and calmodulin-responsive adenylate cyclase activity [GO:0008294]; metal ion binding [GO:0046872]

			transmission [GO:0050804]; neuroinflammatory response [GO:0150076]; positive regulation of long-term synaptic potentiation [GO:1900273]; presynaptic modulation of chemical synaptic transmission [GO:0099171]; regulation of circadian rhythm [GO:0042752]; response to xenobiotic stimulus [GO:0009410]	[GO:0098685]	
AHNAK nucleoprotein	A0A8I6AAE1	ENSRNOG00000065 195			
A-kinase anchoring protein 2	D4A4D8	Akap2	regulation of cell shape [GO:0008360]	membrane [GO:0016020]	
Albumin	A0A0G2JSH5	Alb		extracellular space [GO:0005615]	metal ion binding [GO:0046872]

Albumin	P02770	Alb	cellular response to calcium ion starvation [GO:0072732]; cellular response to starvation [GO:0009267]; maintenance of mitochondrion location [GO:0051659]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; negative regulation of mitochondrial depolarization [GO:0051902]; positive regulation of circadian sleep/wake cycle, non-REM sleep [GO:0046010]; response to mercury ion [GO:0046689]; response to nutrient [GO:0007584];	basement membrane [GO:0005604]; cytoplasm [GO:0005737]; extracellular exosome [GO:0070062]; extracellular region [GO:0005576]; extracellular space [GO:0005615]; protein-containing complex [GO:0032991]	DNA binding [GO:0003677]; enterobactin binding [GO:1903981]; enzyme binding [GO:0019899]; exogenous protein binding [GO:0140272]; fatty acid binding [GO:0005504]; identical protein binding [GO:0042802]; modified amino acid binding [GO:0072341]; protein-folding chaperone binding [GO:0051087]; pyridoxal phosphate binding [GO:0030170]; toxic substance binding [GO:0015643]; zinc ion binding [GO:0008270]

			response to organic substance [GO:0010033]; response to platinum ion [GO:0070541]; vasodilation [GO:0042311]		
Alcohol sulfotransferase-like (LRRGT00036)	Q6TXG3	LOC100360574			sulfotransferase activity [GO:0008146]
Alpha-fetoprotein (Alpha-1-fetoprotein) (Alpha-fetoglobulin)	G3V6D0	Afp	ovulation from ovarian follicle [GO:0001542]; progesterone metabolic process [GO:0042448]; SMAD protein signal transduction [GO:0060395]	cytoplasm [GO:0005737]; extracellular space [GO:0005615]	metal ion binding [GO:0046872]
Amine oxidase (EC 1.4.3.-)	Q6IMK4	Svs1	amine metabolic process [GO:0009308]; response to antibiotic [GO:0046677]	plasma membrane [GO:0005886]	copper ion binding [GO:0005507]; diamine oxidase activity [GO:0052597]; primary amine oxidase activity [GO:0008131]; quinone binding [GO:0048038]
Ankyrin repeat domain 33B	D3ZTU7	Ankrd33b			

Annexin	A0A8I6A0U3	Anxa2		basement membrane [GO:0005604]; extracellular region [GO:0005576]; membrane [GO:0016020]	calcium ion binding [GO:0005509]; calcium- dependent phospholipid binding [GO:0005544]; cytoskeletal protein binding [GO:0008092]; phospholipase inhibitor activity [GO:0004859]
Apolipoprotein B	A0A8I6AJ20	ApoB			lipid transporter activity [GO:0005319]
Apoptosis inducing factor, mitochondria associated 3	A0A8I6A793	Aifm3	execution phase of apoptosis [GO:0097194]	cytoplasm [GO:0005737]; endoplasmic reticulum [GO:0005783]; mitochondrial inner membrane [GO:0005743]; mitochondrion [GO:0005739]	2 iron, 2 sulfur cluster binding [GO:0051537]; flavin adenine dinucleotide binding [GO:0050660]; metal ion binding [GO:0046872]; oxidoreductase activity, acting on NAD(P)H [GO:0016651]
Aprataxin and PNKP like factor	F6Q5G6	Aplf	DNA damage response [GO:0006974]; DNA repair [GO:0006281]; DNA repair-dependent	cytosol [GO:0005829]; nucleus [GO:0005634]; site of DNA damage [GO:0090734]; site	3'-5' exonuclease activity [GO:0008408]; ADP-D- ribose modification- dependent protein binding [GO:0160002]; DNA endonuclease

			chromatin remodeling [GO:0140861]; double-strand break repair [GO:0006302]; double-strand break repair via nonhomologous end joining [GO:0006303]; embryo implantation [GO:0007566]; positive regulation of DNA ligation [GO:0051106]; protein localization to chromatin [GO:0071168]; regulation of epithelial to mesenchymal transition [GO:0010717]; regulation of isotype switching	of double-strand break [GO:0035861]	activity [GO:0004520]; DNA-(apurinic or apyrimidinic site) endonuclease activity [GO:0003906]; histone binding [GO:0042393]; histone chaperone activity [GO:0140713]; nucleotide binding [GO:0000166]; poly-ADP-D-ribose binding [GO:0072572]; protein folding chaperone [GO:0044183]

			[GO:0045191]; single strand break repair [GO:0000012]		
Armadillo repeat containing, X-linked 2	Q642B5	Armcx2		mitochondrial outer membrane [GO:0005741]; mitochondrion [GO:0005739]	
AT hook containing transcription factor 1	A0A0G2K160	Ahctf1	nuclear pore complex assembly [GO:0051292]; regulation of cytokinesis [GO:0032465]	chromatin [GO:0000785]; cytoplasm [GO:0005737]; nuclear envelope [GO:0005635]; nuclear matrix [GO:0016363]; nucleus [GO:0005634]	
ATPase H ⁺ transporting V0 subunit a2	A0A8I6A269	Dnah10 Tctn2	microtubule-based movement [GO:0007018]	axoneme [GO:0005930]; dynein complex [GO:0030286]; microtubule [GO:0005874]; motile cilium [GO:0031514]	ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]; dynein intermediate chain binding [GO:0045505]; dynein light intermediate chain binding

					[GO:0051959]; minus-end-directed microtubule motor activity [GO:0008569]
Atrophin 1	A0A0G2JZ81	Atn1		nucleus [GO:0005634]	
Baculoviral IAP repeat-containing 6	A0A0G2JZ53	Birc6	apoptotic process [GO:0006915]; cell population proliferation [GO:0008283]; labyrinthine layer development [GO:0060711]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway [GO:2001237]; placenta development [GO:0001890]; positive regulation of cell population	endosome [GO:0005768]; membrane [GO:0016020]; microtubule organizing center [GO:0005815]; midbody [GO:0030496]; spindle pole [GO:0000922]; trans-Golgi network [GO:0005802]	cysteine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004869]; ubiquitin conjugating enzyme activity [GO:0061631]; ubiquitin-protein transferase activity [GO:0004842]

			proliferation [GO:0008284]; regulation of cell population proliferation [GO:0042127]; regulation of cytokinesis [GO:0032465]; spongiotrophoblast layer development [GO:0060712]		
Basigin (Ok blood group)	A0A8I5XWA5	Bsg	axon guidance [GO:0007411]; cell adhesion [GO:0007155]	plasma membrane [GO:0005886]	
BCL2-antagonist/killer 1	F7EQF3	Bak1	animal organ regeneration [GO:0031100]; apoptotic process [GO:0006915]; apoptotic process involved in blood vessel morphogenesis [GO:1902262];	BAK complex [GO:0097145]; Bcl- 2 family protein complex [GO:0097136]; cytosol [GO:0005829]; endoplasmic reticulum [GO:0005783];	BH domain binding [GO:0051400]; heat shock protein binding [GO:0031072]; identical protein binding [GO:0042802]; porin activity [GO:0015288]; protein heterodimerization activity [GO:0046982];

		apoptotic signaling pathway [GO:0097190]; B cell apoptotic process [GO:0001783]; B cell homeostasis [GO:0001782]; B cell negative selection [GO:0002352]; blood vessel remodeling [GO:0001974]; calcium ion transport into cytosol [GO:0060402]; cellular response to mechanical stimulus [GO:0071260]; cellular response to UV [GO:0034644]; endocrine pancreas development [GO:0031018]; epithelial cell	mitochondrial membrane [GO:0031966]; mitochondrial outer membrane [GO:0005741]; mitochondrion [GO:0005739]; pore complex [GO:0046930]	protein homodimerization activity [GO:0042803]; protein-containing complex binding [GO:0044877]; protein-folding chaperone binding [GO:0051087]; transmembrane transporter binding [GO:0044325]

			proliferation [GO:0050673]; establishment of localization in cell [GO:0051649]; establishment or maintenance of transmembrane electrochemical gradient [GO:0010248]; extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand [GO:0097192]; fibroblast apoptotic process [GO:0044346]; homeostasis of number of cells [GO:0048872]; intrinsic apoptotic signaling pathway [GO:0097193]; intrinsic apoptotic signaling pathway in		

			response to DNA damage [GO:0008630]; intrinsic apoptotic signaling pathway in response to endoplasmic reticulum stress [GO:0070059]; leukocyte homeostasis [GO:0001776]; limb morphogenesis [GO:0035108]; mitochondrial fusion [GO:0008053]; myeloid cell homeostasis [GO:0002262]; negative regulation of cell population proliferation [GO:0008285]; negative regulation of endoplasmic reticulum calcium		

			ion concentration [GO:0032471]; negative regulation of gene expression [GO:0010629]; negative regulation of mitochondrial outer membrane permeabilization involved in apoptotic signaling pathway [GO:1901029]; negative regulation of peptidyl-serine phosphorylation [GO:0033137]; negative regulation of release of cytochrome c from mitochondria [GO:0090201]; positive regulation of apoptotic process [GO:0043065]; positive regulation of calcium ion transport		

			into cytosol [GO:0010524]; positive regulation of endoplasmic reticulum unfolded protein response [GO:1900103]; positive regulation of protein-containing complex assembly [GO:0031334]; positive regulation of proteolysis [GO:0045862]; positive regulation of release of cytochrome c from mitochondria [GO:0090200]; post- embryonic camera- type eye morphogenesis [GO:0048597]; regulation of cell cycle [GO:0051726]; regulation of		

			mitochondrial membrane permeability [GO:0046902]; regulation of mitochondrial membrane potential [GO:0051881]; release of cytochrome c from mitochondria [GO:0001836]; response to ethanol [GO:0045471]; response to fungus [GO:0009620]; response to gamma radiation [GO:0010332]; response to hydrogen peroxide [GO:0042542]; response to mycotoxin [GO:0010046]; response to organic		

			cyclic compound [GO:0014070]; response to UV-C [GO:0010225]; response to xenobiotic stimulus [GO:0009410]; thymocyte apoptotic process [GO:0070242]; vagina development [GO:0060068]		
Beta-2-microglobulin	A0A8I6A949	B2m	amyloid fibril formation [GO:1990000]; antigen processing and presentation of endogenous peptide antigen via MHC class I [GO:0019885]; cellular response to iron ion [GO:0071281]; cellular response to nicotine	cytosol [GO:0005829]; extracellular region [GO:0005576]; Golgi apparatus [GO:0005794]; HFE-transferrin receptor complex [GO:1990712]; MHC class I peptide loading complex [GO:0042824]; MHC class I protein complex	protein homodimerization activity [GO:0042803]

			[GO:0071316]; immune response [GO:0006955]; intracellular iron ion homeostasis [GO:0006879]; learning or memory [GO:0007611]; negative regulation of epithelial cell proliferation [GO:0050680]; negative regulation of forebrain neuron differentiation [GO:2000978]; negative regulation of neurogenesis [GO:0050768]; positive regulation of cellular senescence [GO:2000774]; positive regulation of receptor-mediated endocytosis [GO:0048260];	[GO:0042612]	

			positive regulation of T cell cytokine production [GO:0002726]; protein homotetramerization [GO:0051289]; regulation of iron ion transport [GO:0034756]		
BICD cargo adaptor 1	A0A8I5ZKI9	Bicd1	microtubule anchoring at microtubule organizing center [GO:0072393]; minus-end-directed organelle transport along microtubule [GO:0072385]; negative regulation of phospholipase C- activating G protein- coupled receptor signaling pathway [GO:1900737]; positive regulation of	centrosome [GO:0005813]; cytoplasmic vesicle [GO:0031410]; cytosol [GO:0005829]; Golgi apparatus [GO:0005794]; membrane [GO:0016020]; perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]; secretory vesicle [GO:0099503]; trans-Golgi network	cytoskeletal anchor activity [GO:0008093]; dynactin binding [GO:0034452]; dynein complex binding [GO:0070840]; dynein intermediate chain binding [GO:0045505]; protein kinase binding [GO:0019901]; proteinase activated receptor binding [GO:0031871]; small GTPase binding [GO:0031267]

			protein localization to centrosome [GO:1904781]; positive regulation of receptor-mediated endocytosis [GO:0048260]; protein localization to organelle [GO:0033365]; regulation of microtubule cytoskeleton organization [GO:0070507]; stress granule assembly [GO:0034063]; viral process [GO:0016032]	[GO:0005802]	
Bifunctional phosphoribosylaminoimidazole carboxylase/phosphoribosylami noimidazole succinocarboxamide synthetase	A0A8I6A960	Paics	'de novo' IMP biosynthetic process [GO:0006189]		ATP binding [GO:0005524]; carboxy- lyase activity [GO:0016831]; phosphoribosylaminoimi dazolesuccinocarboxami

					de synthase activity [GO:0004639]
BR serine/threonine kinase 2	A0A8I5ZLC7	Brsk2			ATP binding [GO:0005524]; protein kinase activity [GO:0004672]
Bromodomain PHD finger transcription factor	A0A0G2K7N8	Bptf	anterior/posterior pattern specification [GO:0009952]; brain development [GO:0007420]; cellular response to nerve growth factor stimulus [GO:1990090]; chromatin remodeling [GO:0006338]; embryonic placenta development [GO:0001892]; endoderm development [GO:0007492]; negative regulation of transcription by	ATPase complex [GO:1904949]; cell body [GO:0044297]; chromatin [GO:0000785]; dendrite [GO:0030425]; nucleus [GO:0005634]; NURF complex [GO:0016589]; perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]	metal ion binding [GO:0046872]; methylated histone binding [GO:0035064]; RNA polymerase II cis- regulatory region sequence-specific DNA binding [GO:0000978]; sequence-specific DNA binding [GO:0043565]

			RNA polymerase II [GO:0000122]; positive regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0045944]; regulation of DNA- templated transcription [GO:0006355]; regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0006357]		
BTB/POZ domain-containing protein 8 (AP2-interacting clathrin-endocytosis protein) (APache)	A0A452Q762	Btbd8 Kiaa1107	clathrin-dependent synaptic vesicle endocytosis [GO:0150007]; neuron projection development [GO:0031175]; synaptic vesicle budding from endosome [GO:0016182]; synaptic vesicle	axon [GO:0030424]; cell body [GO:0044297]; clathrin-coated vesicle [GO:0030136]; neuron projection terminus [GO:0044306]; nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus	

			endocytosis [GO:0048488]; synaptic vesicle recycling via endosome [GO:0036466]	[GO:0005634]; presynapse [GO:0098793]; synapse [GO:0045202]; synaptic vesicle [GO:0008021]	
Calcium-activated potassium channel subunit alpha-1 (BK channel) (BKCA alpha) (Calcium-activated potassium channel, subfamily M subunit alpha-1) (K(VCA)alpha) (KCa1.1) (Maxi K channel) (Slo-alpha) (Slo1) (Slowpoke homolog)	A0A0G2K8Q9	Kcnma1		membrane [GO:0016020]	monoatomic ion gated channel activity [GO:0022839]; potassium channel activity [GO:0005267]
Calponin	D3ZRX9	Cnn2	actin filament organization [GO:0007015]; actomyosin structure organization [GO:0031032]; cellular response to mechanical stimulus [GO:0071260]; establishment of	actin cytoskeleton [GO:0015629]; membrane [GO:0016020]; stress fiber [GO:0001725]	actin filament binding [GO:0051015]; calmodulin binding [GO:0005516]

			localization in cell [GO:0051649]; hemopoiesis [GO:0030097]; macrophage migration [GO:1905517]; negative regulation of macrophage migration [GO:1905522]; negative regulation of phagocytosis [GO:0050765]; phagocytosis [GO:0006909]; positive regulation of gene expression [GO:0010628]; regulation of actin filament-based process [GO:0032970]; regulation of leukocyte proliferation		

			[GO:0070663]; wound healing [GO:0042060]		
CAP-GLY domain containing linker protein 2	A0A0G2JZF2	Clip2			
Carbonic anhydrase (EC 4.2.1.1)	A0A8I6AMP9	Car2			carbonate dehydratase activity [GO:0004089]; zinc ion binding [GO:0008270]
Cardiotrophin 2 (Neuropoietin)	Q6R2R3	Ctf2 Ctf2p	cell surface receptor signaling pathway [GO:0007166]; neuroblast proliferation [GO:0007405]; positive regulation of neuroblast proliferation [GO:0002052]; positive regulation of tyrosine phosphorylation of STAT protein [GO:0042531]	extracellular region [GO:0005576]	ciliary neurotrophic factor receptor binding [GO:0005127]; cytokine activity [GO:0005125]; leukemia inhibitory factor receptor binding [GO:0005146]
Cardiotrophin-like cytokine factor 1	A0A8I6GGY9	Clcf1	B cell differentiation [GO:0030183]; cell	CNTRF-CLCF1 complex	ciliary neurotrophic factor receptor binding

			surface receptor signaling pathway [GO:0007166]; negative regulation of neuron apoptotic process [GO:0043524]; positive regulation of astrocyte differentiation [GO:0048711]; positive regulation of B cell proliferation [GO:0030890]; positive regulation of cell population proliferation [GO:0008284]; positive regulation of immunoglobulin production [GO:0002639]; positive regulation of isotype switching to IgE isotypes [GO:0048295];	[GO:0097059]; CRLF-CLCF1 complex [GO:0097058]; extracellular region [GO:0005576]	[GO:0005127]; cytokine activity [GO:0005125]; signaling receptor binding [GO:0005102]

			positive regulation of tyrosine phosphorylation of STAT protein [GO:0042531]; receptor signaling pathway via JAK-STAT [GO:0007259]		
Cathepsin D (EC 3.4.23.5)	A0A8I6AKF2	Ctsd	proteolysis [GO:0006508]		aspartic-type endopeptidase activity [GO:0004190]
CCR4-NOT transcription complex, subunit 3	D3ZUV9	Cnot3	nuclear-transcribed mRNA poly(A) tail shortening [GO:0000289]; positive regulation of cold-induced thermogenesis [GO:0120162]; regulation of DNA-templated transcription [GO:0006355]; regulation of stem cell population	CCR4-NOT complex [GO:0030014]; CCR4-NOT core complex [GO:0030015]; nucleus [GO:0005634]; P-body [GO:0000932]	

			maintenance [GO:2000036]; regulatory ncRNA- mediated gene silencing [GO:0031047]; trophectodermal cell differentiation [GO:0001829]		
CD244 molecule	F1LME3	Cd244l1 Cd244		membrane [GO:0016020]	
Centrosomal protein 112	A0A8I6A7K4	Cep112		centrosome [GO:0005813]	
Centrosomal protein 128	A0A8I6A8E4	Cep128	protein localization [GO:0008104]; regulation of gene expression [GO:0010468]; sperm flagellum assembly [GO:0120316]; spermatogenesis [GO:0007283]	centriolar subdistal appendage [GO:0120103]; centriole [GO:0005814]; centrosome [GO:0005813]; Golgi apparatus [GO:0005794]; nuclear membrane [GO:0031965]; spindle pole [GO:0000922]	

Centrosomal protein 192	A0A8I6A567	Cep192 Seh1l	centrosome duplication [GO:0051298]; centrosome-templated microtubule nucleation [GO:0090222]; mitotic spindle assembly [GO:0090307]; protein localization to centrosome [GO:0071539]; response to bacterium [GO:0009617]	centriole [GO:0005814]; centrosome [GO:0005813]; cytoplasm [GO:0005737]; pericentriolar material [GO:0000242]; procentriole [GO:0120098]; procentriole replication complex [GO:0120099]	phosphatase binding [GO:0019902]
Centrosomal protein 89	A0A0G2JZG8	Cep89	chemical synaptic transmission [GO:0007268]; cilium assembly [GO:0060271]; mitochondrion organization [GO:0007005]; non-motile cilium	centriole [GO:0005814]; centrosome [GO:0005813]; ciliary transition fiber [GO:0097539]; cytosol [GO:0005829]; motile cilium	

			assembly [GO:1905515]	[GO:0031514]; non-motile cilium [GO:0097730]; spindle pole [GO:0000922]; synapse [GO:0045202]	
Cingulin	A0A8I6A4L9	Cgn	bicellular tight junction assembly [GO:0070830]; epithelial cell morphogenesis [GO:0003382]; microtubule cytoskeleton organization [GO:0000226]	apical junction complex [GO:0043296]; bicellular tight junction [GO:0005923]; brush border [GO:0005903]; myosin complex [GO:0016459]	microtubule binding [GO:0008017]
Circadian locomoter output cycles protein kaput (EC 2.3.1.48)	A0A0G2K8N0	Clock	cellular response to ionizing radiation [GO:0071479]; circadian regulation of gene expression [GO:0032922]; DNA damage checkpoint signaling [GO:0000077];	chromatoid body [GO:0033391]; chromosome [GO:0005694]; CLOCK-BMAL transcription complex [GO:1990513]; cytosol	chromatin DNA binding [GO:0031490]; DNA-binding transcription activator activity, RNA polymerase II-specific [GO:0001228]; E-box binding [GO:0070888]; histone acetyltransferase activity [GO:0004402];

			negative regulation of DNA-templated transcription [GO:0045892]; negative regulation of glucocorticoid receptor signaling pathway [GO:2000323]; positive regulation of circadian rhythm [GO:0042753]; positive regulation of inflammatory response [GO:0050729]; proteasome- mediated ubiquitin- dependent protein catabolic process [GO:0043161]; regulation of hair cycle [GO:0042634]; regulation of insulin secretion [GO:0050796];	[GO:0005829]; nucleoplasm [GO:0005654]	protein dimerization activity [GO:0046983]

			regulation of type B pancreatic cell development [GO:2000074]; response to redox state [GO:0051775]; spermatogenesis [GO:0007283]		
Clusterin	A0A0G2JZ07	Clul1		extracellular region [GO:0005576]	
Clusterin	A0A0G2K259	Clu		chromaffin granule [GO:0042583]; cytosol [GO:0005829]; endoplasmic reticulum [GO:0005783]; extracellular region [GO:0005576]; mitochondrial membrane [GO:0031966]; nucleus [GO:0005634]; perinuclear region of cytoplasm	

				[GO:0048471]	
Coagulation factor VIII	D3ZEB1	F8	blood coagulation, intrinsic pathway [GO:0007597]	extracellular space [GO:0005615]	copper ion binding [GO:0005507]; oxidoreductase activity [GO:0016491]
Coiled-coil domain containing 175	A0A8I5ZSI1	Ccdc175			
Collagen type X alpha 1 chain	A0A0G2K7A5	Col10a1	cartilage development [GO:0051216]; endochondral ossification [GO:0001958]; extracellular matrix organization [GO:0030198]	cell cortex [GO:0005938]; collagen trimer [GO:0005581]; collagen type X trimer [GO:0005599]; collagen-containing extracellular matrix [GO:0062023]; extracellular matrix [GO:0031012]; extracellular space [GO:0005615]	extracellular matrix structural constituent conferring tensile strength [GO:0030020]
Collagen type XI alpha 2 chain	A0A8I6A830	Col11a2	cartilage development [GO:0051216]; chondrocyte differentiation	collagen trimer [GO:0005581]; collagen-containing extracellular matrix [GO:0062023];	extracellular matrix structural constituent conferring tensile strength [GO:0030020]; heparin binding

			[GO:0002062]; collagen fibril organization [GO:0030199]; osteoblast differentiation [GO:0001649]; roof of mouth development [GO:0060021]; sensory perception of sound [GO:0007605]; skeletal system development [GO:0001501]; skeletal system morphogenesis [GO:0048705]; soft palate development [GO:0060023]; tissue homeostasis [GO:0001894]	extracellular space [GO:0005615]	[GO:0008201]
Conserved oligomeric Golgi complex subunit 8 (COG complex subunit 8) (Component	B5DF86	Cog8	glycosylation [GO:0070085]; Golgi organization	Golgi membrane [GO:0000139]; Golgi transport	

of oligomeric Golgi complex 8)			[GO:0007030]; intra-Golgi vesicle-mediated transport [GO:0006891]; protein transport [GO:0015031]; retrograde transport, vesicle recycling within Golgi [GO:0000301]	complex [GO:0017119]	
Cullin-5	A0A0H2UHG3	Cul5	protein ubiquitination [GO:0016567]; ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:0006511]	Cul5-RING ubiquitin ligase complex [GO:0031466]; site of DNA damage [GO:0090734]	ubiquitin protein ligase binding [GO:0031625]
Cyclin-dependent kinase 18	A0A0H2UHG4	Cdk18			ATP binding [GO:0005524]; protein serine/threonine kinase activity [GO:0004674]
Cystatin C	A0A8I6AD91	Cst3			cysteine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004869]
Cystatin C	A0A8L2Q336	Cst3			cysteine-type endopeptidase inhibitor

					activity [GO:0004869]
Cytoskeleton-associated protein 4	D3ZH41	Ckap4		endoplasmic reticulum [GO:0005783]; lipid droplet [GO:0005811]; membrane [GO:0016020]; rough endoplasmic reticulum [GO:0005791]	
Cytotoxic T-lymphocyte protein 4 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4)	G3V7D2	Ctla4	B cell receptor signaling pathway [GO:0050853]; DNA damage response [GO:0006974]; immune response [GO:0006955]; negative regulation of B cell proliferation [GO:0030889]; negative regulation of regulatory T cell differentiation [GO:0045590];	clathrin-coated endocytic vesicle [GO:0045334]; external side of plasma membrane [GO:0009897]; Golgi apparatus [GO:0005794]; perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]; plasma membrane [GO:0005886]; protein complex involved in cell	

			negative regulation of T cell proliferation [GO:0042130]; positive regulation of apoptotic process [GO:0043065]; T cell receptor signaling pathway [GO:0050852]	adhesion [GO:0098636]	
DDB1 and CUL4 associated factor 15	D3ZFW6	Dcaf15	protein polyubiquitination [GO:0000209]; protein ubiquitination [GO:0016567]; regulation of natural killer cell activation [GO:0032814]	Cul4-RING E3 ubiquitin ligase complex [GO:0080008]	small molecule binding [GO:0036094]
Dedicator of cytokinesis 8	A0A8I6A829	Dock8	cellular response to chemokine [GO:1990869]; dendritic cell migration [GO:0036336]; immunological	cell leading edge [GO:0031252]; cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; leading edge	guanyl-nucleotide exchange factor activity [GO:0005085]

			synapse formation [GO:0001771]; memory T cell proliferation [GO:0061485]; negative regulation of T cell apoptotic process [GO:0070233]; positive regulation of establishment of T cell polarity [GO:1903905]; positive regulation of T cell migration [GO:2000406]; small GTPase mediated signal transduction [GO:0007264]	membrane [GO:0031256]	
Defensin beta 39	A0A8I5ZVY9	Defb39	defense response to bacterium [GO:0042742]	extracellular region [GO:0005576]	
Delta(24)-sterol reductase (EC 1.3.1.72) (24-dehydrocholesterol reductase) (3-beta-hydroxysterol Delta-24-reductase)	Q5BQE6	Dhcr24	amyloid precursor protein catabolic process [GO:0042987];	cytoplasm [GO:0005737]; endoplasmic reticulum	delta24(24-1) sterol reductase activity [GO:0000246]; delta24- sterol reductase activity

		cholesterol biosynthetic process [GO:0006695]; cholesterol biosynthetic process via desmosterol [GO:0033489]; cholesterol metabolic process [GO:0008203]; male genitalia development [GO:0030539]; membrane organization [GO:0061024]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; negative regulation of cell population proliferation [GO:0008285]; plasminogen activation [GO:0031639];	[GO:0005783]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; Golgi membrane [GO:0000139]; nucleus [GO:0005634]	[GO:0050614]; enzyme binding [GO:0019899]; FAD binding [GO:0071949]; oxidoreductase activity [GO:0016491]; oxidoreductase activity, acting on the CH-CH group of donors, NAD or NADP as acceptor [GO:0016628]; peptide antigen binding [GO:0042605]

			protein localization [GO:0008104]; Ras protein signal transduction [GO:0007265]; response to hormone [GO:0009725]; response to oxidative stress [GO:0006979]; skin development [GO:0043588]; steroid metabolic process [GO:0008202]; sterol metabolic process [GO:0016125]; tissue development [GO:0009888]		
DENN domain containing 3	A0A8I6G2K6	Dennd3	endosome to lysosome transport [GO:0008333]; protein catabolic process [GO:0030163];	cytoplasmic vesicle [GO:0031410]	guanyl-nucleotide exchange factor activity [GO:0005085]

			regulation of Rab protein signal transduction [GO:0032483]		
DENN domain containing 5B	A0A8I5ZYN4	Dennd5b	positive regulation of triglyceride transport [GO:1905885]	membrane [GO:0016020]	guanyl-nucleotide exchange factor activity [GO:0005085]; small GTPase binding [GO:0031267]
deoxyribonuclease II (EC 3.1.22.1)	A0A8I6GEI2	Dnase2b			deoxyribonuclease II activity [GO:0004531]
deoxyribonuclease II (EC 3.1.22.1)	G3V825	Dnase2b			deoxyribonuclease II activity [GO:0004531]
DEP domain containing 1B	A0A8I6A996	Depdc1b	cell migration [GO:0016477]; intracellular signal transduction [GO:0035556]; positive regulation of Wnt signaling pathway [GO:0030177]		
Deubiquitinating protein VCPIP1 (EC 3.4.19.12) (Valosin-containing protein p97/p47 complex-interacting	Q8CF97	Vcpi1 Vcip135	DNA damage response [GO:0006974]; endoplasmic	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; Golgi stack	cysteine-type deubiquitinase activity [GO:0004843]

protein 1) (Valosin-containing protein p97/p47 complex-interacting protein p135) (VCP/p47 complex-interacting 135-kDa protein)			reticulum membrane fusion [GO:0016320]; Golgi organization [GO:0007030]; Golgi reassembly [GO:0090168]; protein deubiquitination [GO:0016579]; protein K11-linked deubiquitination [GO:0035871]; protein K48-linked deubiquitination [GO:0071108]; protein ubiquitination [GO:0016567]; protein-DNA covalent cross-linking repair [GO:0106300]; proteolysis [GO:0006508]; regulation of protein	[GO:0005795]; nucleus [GO:0005634]; synapse [GO:0045202]	

			localization to chromatin [GO:1905634]		
Diacylglycerol kinase theta (DAG kinase theta) (DGKtheta) (EC 2.7.1.107) (EC 2.7.1.93)	D3ZEY4	Dgkq	cAMP-mediated signaling [GO:0019933]; diacylglycerol metabolic process [GO:0046339]; G protein-coupled receptor signaling pathway [GO:0007186]; glycerolipid metabolic process [GO:0046486]; intracellular signal transduction [GO:0035556]; lipid phosphorylation [GO:0046834]; negative regulation of gene expression [GO:0010629]; negative regulation of peptidyl-threonine	cytoplasm [GO:0005737]; cytoskeleton [GO:0005856]; cytosol [GO:0005829]; endosome [GO:0005768]; glutamatergic synapse [GO:0098978]; nuclear matrix [GO:0016363]; nuclear speck [GO:0016607]; nucleolus [GO:0005730]; nucleus [GO:0005634]; plasma membrane [GO:0005886]; postsynapse [GO:0098794];	ATP binding [GO:0005524]; ATP-dependent diacylglycerol kinase activity [GO:0004143]; DNA-binding transcription factor binding [GO:0140297]; kinase binding [GO:0019900]; metal ion binding [GO:0046872]; phospholipase binding [GO:0043274]; transmembrane receptor protein tyrosine kinase activator activity [GO:0030297]

			phosphorylation [GO:0010801]; phosphatidic acid biosynthetic process [GO:0006654]; positive regulation of gene expression [GO:0010628]; positive regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation [GO:0050731]; protein kinase C signaling [GO:0070528]; protein kinase C- activating G protein- coupled receptor signaling pathway [GO:0007205]; regulation of cholesterol metabolic process [GO:0090181]; regulation of cortisol biosynthetic process	presynapse [GO:0098793]; vesicle membrane [GO:0012506]	

			[GO:2000064]; regulation of G protein-coupled receptor signaling pathway [GO:0008277]; regulation of gluconeogenesis [GO:0006111]; regulation of progesterone biosynthetic process [GO:2000182]; regulation of synaptic vesicle endocytosis [GO:1900242]; regulation of TORC1 signaling [GO:1903432]; regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0006357]; response to ATP [GO:0033198];		

			response to cAMP [GO:0051591]; thrombin-activated receptor signaling pathway [GO:0070493]		
DIS3-like exonuclease 2 (EC 3.1.13.-)	A0A0G2K6W6	Dis3l2 DIS3L2	cell division [GO:0051301]; miRNA catabolic process [GO:0010587]; mitotic cell cycle [GO:0000278]; mitotic sister chromatid separation [GO:0051306]; mRNA catabolic process [GO:0006402]; negative regulation of cell population proliferation [GO:0008285]; nuclear-transcribed mRNA catabolic process,	cytoplasm [GO:0005737]; P- body [GO:0000932]	3'-5'-RNA exonuclease activity [GO:0000175]; magnesium ion binding [GO:0000287]; poly(U) RNA binding [GO:0008266]; RNA nuclease activity [GO:0004540]

			exonucleolytic [GO:0000291]; nuclear-transcribed mRNA catabolic process, exonucleolytic, 3'-5' [GO:0034427]; polyuridylation- dependent mRNA catabolic process [GO:1990074]; stem cell population maintenance [GO:0019827]		
DISC1 scaffold protein	A0A8L2QR08	Disc1			
Dmx-like 1	A0A8I6A9G2	Dmx11	vacuolar acidification [GO:0007035]	RAVE complex [GO:0043291]	
DNA helicase (EC 3.6.4.12)	A0A8I6ARM3	Chd6		nucleus [GO:0005634]	ATP binding [GO:0005524]; ATP- dependent chromatin remodeler activity [GO:0140658]; helicase activity [GO:0004386]; hydrolase activity [GO:0016787]

DNA replication licensing factor MCM4 (EC 3.6.4.12)	A0A8I6AAZ2	Mcm4	DNA strand elongation involved in DNA replication [GO:0006271]; DNA unwinding involved in DNA replication [GO:0006268]; double-strand break repair via break-induced replication [GO:0000727]; mitotic DNA replication initiation [GO:1902975]	CMG complex [GO:0071162]; MCM complex [GO:0042555]; membrane [GO:0016020]; nucleus [GO:0005634]	ATP binding [GO:0005524]; DNA helicase activity [GO:0003678]; hydrolase activity [GO:0016787]; single-stranded DNA binding [GO:0003697]
DNA-(apurinic or apyrimidinic site) endonuclease (EC 3.1.-.-)	A0A8L2Q612	Apex1	DNA recombination [GO:0006310]; DNA repair [GO:0006281]	mitochondrion [GO:0005739]; nucleus [GO:0005634]	DNA binding [GO:0003677]; endonuclease activity [GO:0004519]; metal ion binding [GO:0046872]
DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (EC 2.7.11.1)	A0A8I6ADM3	Prkdc	activation of innate immune response [GO:0002218]; B cell lineage commitment [GO:0002326]; brain development	chromatin [GO:0000785]; DNA-dependent protein kinase complex [GO:0070418]; DNA-dependent	ATP binding [GO:0005524]; DNA-dependent protein kinase activity [GO:0004677]; double-stranded DNA binding [GO:0003690]; enzyme binding

			[GO:0007420]; cellular response to insulin stimulus [GO:0032869]; DNA damage response [GO:0006974]; double-strand break repair [GO:0006302]; double-strand break repair via nonhomologous end joining [GO:0006303]; ectopic germ cell programmed cell death [GO:0035234]; heart development [GO:0007507]; immature B cell differentiation [GO:0002327]; immunoglobulin V(D)J recombination [GO:0033152]; intrinsic apoptotic	protein kinase-DNA ligase 4 complex [GO:0005958]; nonhomologous end joining complex [GO:0070419]; nucleolus [GO:0005730]; nucleus [GO:0005634]; protein-containing complex [GO:0032991]; protein-DNA complex [GO:0032993]; small-subunit processome [GO:0032040]; transcription regulator complex [GO:0005667]	[GO:0019899]; protein domain specific binding [GO:0019904]; protein kinase activity [GO:0004672]; protein serine/threonine kinase activity [GO:0004674]; RNA polymerase II- specific DNA-binding transcription factor binding [GO:0061629]; U3 snoRNA binding [GO:0034511]

			signaling pathway in response to DNA damage [GO:0008630]; lymphocyte differentiation [GO:0030098]; maturation of 5.8S rRNA [GO:0000460]; mitotic G1 DNA damage checkpoint signaling [GO:0031571]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; negative regulation of cellular senescence [GO:2000773]; negative regulation of immunoglobulin production [GO:0002638]; negative regulation		

			of innate immune response [GO:0045824]; negative regulation of protein phosphorylation [GO:0001933]; negative regulation of response to gamma radiation [GO:2001229]; phosphorylation [GO:0016310]; positive regulation of apoptotic process [GO:0043065]; positive regulation of developmental growth [GO:0048639]; positive regulation of double-strand break repair via nonhomologous end joining [GO:2001034];		

			positive regulation of erythrocyte differentiation [GO:0045648]; positive regulation of fibroblast proliferation [GO:0048146]; positive regulation of immune system process [GO:0002684]; positive regulation of lymphocyte differentiation [GO:0045621]; positive regulation of platelet formation [GO:1905221]; positive regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0045944]; positive regulation of translation [GO:0045727]; pro-		

			B cell differentiation [GO:0002328]; protein destabilization [GO:0031648]; protein modification process [GO:0036211]; regulation of circadian rhythm [GO:0042752]; regulation of epithelial cell proliferation [GO:0050678]; regulation of hematopoietic stem cell differentiation [GO:1902036]; regulation of smooth muscle cell proliferation [GO:0048660]; response to activity [GO:0014823]; response to gamma		

			radiation [GO:0010332]; response to ionizing radiation [GO:0010212]; small-subunit processome assembly [GO:0034462]; somitogenesis [GO:0001756]; spleen development [GO:0048536]; T cell differentiation in thymus [GO:0033077]; T cell lineage commitment [GO:0002360]; T cell receptor V(D)J recombination [GO:0033153]; telomere capping [GO:0016233]; telomere maintenance		

			[GO:0000723]; thymus development [GO:0048538]; V(D)J recombination [GO:0033151]		
DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC3 (RNA polymerase III subunit C3)	A0A8I5ZYW9	Polr3c	DNA-templated transcription [GO:0006351]	RNA polymerase III complex [GO:0005666]	single-stranded DNA binding [GO:0003697]
DNA-directed RNA polymerase subunit beta (EC 2.7.7.6)	F1LM57	Polr1b	embryo implantation [GO:0007566]; nucleogenesis [GO:0017126]; rRNA transcription [GO:0009303]	chromosome [GO:0005694]; cytosol [GO:0005829]; fibrillar center [GO:0001650]; RNA polymerase I complex [GO:0005736]	DNA binding [GO:0003677]; DNA-directed 5'-3' RNA polymerase activity [GO:0003899]; ribonucleoside binding [GO:0032549]
DOP1 leucine zipper like protein B	A0A0G2JXD9	Dop1b Dopey2	cognition [GO:0050890]; embryonic pattern specification [GO:0009880]; Golgi to endosome transport [GO:0006895]	cytosol [GO:0005829]; early endosome membrane [GO:0031901]; endosome [GO:0005768]; trans-Golgi network [GO:0005802]	
E3 ubiquitin-protein ligase	A0A0H2UI24	Rnf10	positive regulation of	cytosolic ribosome	metal ion binding

RNF10 (RING finger protein 10)			DNA-templated transcription [GO:0045893]; protein autoubiquitination [GO:0051865]; protein monoubiquitination [GO:0006513]; ribosome-associated ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:1990116]	[GO:0022626]	[GO:0046872]; ubiquitin protein ligase activity [GO:0061630]
Electron transfer flavoprotein subunit beta (Beta-ETF)	A0A8I6A6U0	Etfb		mitochondrial matrix [GO:0005759]	electron transfer activity [GO:0009055]
Elongation of very long chain fatty acids protein 1 (EC 2.3.1.199) (3-keto acyl-CoA synthase ELOVL1) (ELOVL fatty acid elongase 1) (ELOVL FA elongase 1) (Very long chain 3-ketoacyl-CoA synthase 1) (Very long chain 3-oxoacyl-CoA synthase 1)	A0A1B0GWP1	Elov1 ELOVL1	ceramide biosynthetic process [GO:0046513]; establishment of skin barrier [GO:0061436]; fatty acid elongation, monounsaturated fatty acid [GO:0034625]; fatty	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]	fatty acid elongase activity [GO:0009922]

			acid elongation, polyunsaturated fatty acid [GO:0034626]; fatty acid elongation, saturated fatty acid [GO:0019367]; long-chain fatty-acyl-CoA biosynthetic process [GO:0035338]; sphingolipid biosynthetic process [GO:0030148]; unsaturated fatty acid biosynthetic process [GO:0006636]; very long-chain fatty acid biosynthetic process [GO:0042761]		
EMAP like 6	A0A8I6A7A1	Eml6		cytoplasm [GO:0005737]	microtubule binding [GO:0008017]
Epsilon 2 globin (Globin b3) (Hemoglobin, epsilon 2)	O88753	Hbe2 epsilon 2 Glnb3 Hbe2_predicted	cellular oxidant detoxification [GO:0098869]; hydrogen peroxide catabolic process	haptoglobin-hemoglobin complex [GO:0031838]; hemoglobin complex [GO:0005833]	heme binding [GO:0020037]; hemoglobin alpha binding [GO:0031721]; metal ion binding

			[GO:0042744]		[GO:0046872]; organic acid binding [GO:0043177]; oxygen binding [GO:0019825]; oxygen carrier activity [GO:0005344]
ESF1 homolog (ABT1-associated protein)	Q76MT4	Esf1 Abtap	rRNA processing [GO:0006364]	nucleolus [GO:0005730]; nucleoplasm [GO:0005654]	RNA binding [GO:0003723]
Ets2 repressor factor	A0A8I6A9F0	Erf	chorio-allantoic fusion [GO:0060710]; ectodermal cell differentiation [GO:0010668]; in utero embryonic development [GO:0001701]; negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]; regulation of transcription by RNA polymerase II	cytosol [GO:0005829]; nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]	DNA-binding transcription factor activity, RNA polymerase II-specific [GO:0000981]; DNA-binding transcription repressor activity, RNA polymerase II-specific [GO:0001227]; sequence-specific DNA binding [GO:0043565]

			[GO:0006357]; trophoblast giant cell differentiation [GO:0060707]		
Eukaryotic translation initiation factor 4E nuclear import factor 1	A0A8I5Y7I8	Eif4enif1	miRNA-mediated gene silencing by inhibition of translation [GO:0035278]; mRNA stabilization [GO:0048255]; negative regulation of deadenylation- dependent decapping of nuclear- transcribed mRNA [GO:0106289]; negative regulation of neuron differentiation [GO:0045665]; negative regulation of translation [GO:0017148]; neuron differentiation	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; nucleus [GO:0005634]; P- body [GO:0000932]	kinase binding [GO:0019900]; mRNA binding [GO:0003729]; nuclear export signal receptor activity [GO:0005049]

			[GO:0030182]; P-body assembly [GO:0033962]; positive regulation of nuclear-transcribed mRNA poly(A) tail shortening [GO:0060213]; protein import into nucleus [GO:0006606]; stem cell population maintenance [GO:0019827]; translation [GO:0006412]		
Exportin 1	A0A8I6A738	Xpo1	protein export from nucleus [GO:0006611]	nucleus [GO:0005634]	nuclear export signal receptor activity [GO:0005049]
F-actin monooxygenase (EC 1.14.13.225)	A0A8I5ZXM8	Mical2	actin filament depolymerization [GO:0030042]; positive regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0045944];	actin filament [GO:0005884]; cytoplasm [GO:0005737]; nucleus [GO:0005634]	actin binding [GO:0003779]; FAD binding [GO:0071949]; metal ion binding [GO:0046872]; mitogen-activated protein kinase binding [GO:0051019];

			sulfur oxidation [GO:0019417]		NAD(P)H oxidase H2O2-forming activity [GO:0016174]; oxidoreductase activity, acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen, NAD(P)H as one donor, and incorporation of one atom of oxygen [GO:0016709]
Fatty acid desaturase 2B	D3ZCK6	Fads2b Fads2l1 RGD1311224	lipid metabolic process [GO:0006629]; unsaturated fatty acid biosynthetic process [GO:0006636]	endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]	oxidoreductase activity, acting on paired donors, with oxidation of a pair of donors resulting in the reduction of molecular oxygen to two molecules of water [GO:0016717]
F-box and leucine-rich repeat protein 20	A0A0H2UI14	Fbxl20			
Fc fragment of IgG binding protein-like 1	F7EZQ4	Fcgbpl1		extracellular matrix [GO:0031012]; extracellular space [GO:0005615]	
FERM and PDZ domain	A0A8I6ALA6	Frmpd4	positive regulation of	cytoskeleton	phosphatidylinositol-4,5-

containing 4			synapse structural plasticity [GO:0051835]; postsynaptic actin cytoskeleton organization [GO:0098974]	[GO:0005856]; dendritic spine [GO:0043197]; glutamatergic synapse [GO:0098978]; postsynaptic density [GO:0014069]; protein-containing complex [GO:0032991]	bisphosphate binding [GO:0005546]
G patch domain containing 1	F1LU70	Gpatch1	mRNA processing [GO:0006397]	catalytic step 2 spliceosome [GO:0071013]; nucleus [GO:0005634]	RNA binding [GO:0003723]
G protein-coupled receptor 155	A0A0G2JZP1	Gpr155	cellular response to amino acid starvation [GO:0034198]; cellular response to cholesterol [GO:0071397]; cognition [GO:0050890]; intracellular signal	lysosomal membrane [GO:0005765]	cholesterol binding [GO:0015485]

			transduction [GO:0035556]; negative regulation of BMP signaling pathway [GO:0030514]; positive regulation of TORC1 signaling [GO:1904263]; transmembrane transport [GO:0055085]		
G protein-coupled receptor 19	A0A8I6AW12	Gpr19		membrane [GO:0016020]	G protein-coupled receptor activity [GO:0004930]
GABA type A receptor associated protein like 2	A0A8I6ASX5	Gabarapl2 Gabarapl3 LOC100359937	autophagy [GO:0006914]	membrane [GO:0016020]	
Gamma-tubulin complex component	A0A8I6A219	Tubgcp5	cytoplasmic microtubule organization [GO:0031122]; meiotic cell cycle [GO:0051321]; microtubule nucleation [GO:0007020];	centrosome [GO:0005813]; cytosol [GO:0005829]; equatorial microtubule organizing center [GO:0000923]; gamma-tubulin	gamma-tubulin binding [GO:0043015]; microtubule binding [GO:0008017]

			mitotic cell cycle [GO:0000278]; spindle assembly [GO:0051225]	complex [GO:0000930]; gamma-tubulin ring complex [GO:0000931]; microtubule [GO:0005874]; spindle pole [GO:0000922]	
GDP-mannose 4,6-dehydratase (EC 4.2.1.47) (GDP-D-mannose dehydratase)	Q3MHS7	Gmcs	'de novo' GDP-L- fucose biosynthetic process [GO:0042351]; GDP-mannose metabolic process [GO:0019673]; Notch signaling pathway [GO:0007219]	cytoplasm [GO:0005737]	GDP-mannose 4,6- dehydratase activity [GO:0008446]; identical protein binding [GO:0042802]; NADP+ binding [GO:0070401]
GEN1 Holliday junction 5' flap endonuclease	D3ZVS5	Gen1	double-strand break repair via homologous recombination [GO:0000724]; positive regulation of mitotic cell cycle	centrosome [GO:0005813]	5'-flap endonuclease activity [GO:0017108]; crossover junction DNA endonuclease activity [GO:0008821]; four-way junction DNA binding [GO:0000400];

			spindle assembly checkpoint [GO:0090267]; regulation of centrosome duplication [GO:0010824]; replication fork processing [GO:0031297]; resolution of mitotic recombination intermediates [GO:0071140]; resolution of recombination intermediates [GO:0071139]		magnesium ion binding [GO:0000287]; protein homodimerization activity [GO:0042803]
Glial cells missing transcription factor 2	D3ZXW4	Gcm2	apoptotic process [GO:0006915]; cellular response to organic substance [GO:0071310]; epithelial cell apoptotic process [GO:1904019]; gene	nucleus [GO:0005634]	DNA-binding transcription activator activity, RNA polymerase II-specific [GO:0001228]; DNA-binding transcription factor activity, RNA polymerase II-specific

		expression [GO:0010467]; glandular epithelial cell differentiation [GO:0002067]; gliogenesis [GO:0042063]; intracellular calcium ion homeostasis [GO:0006874]; intracellular phosphate ion homeostasis [GO:0030643]; negative regulation of epithelial cell apoptotic process [GO:1904036]; parathyroid gland development [GO:0060017]; regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0006357]; transcription by		[GO:0000981]; RNA polymerase II cis- regulatory region sequence-specific DNA binding [GO:0000978]; sequence-specific DNA binding [GO:0043565]; sequence-specific double-stranded DNA binding [GO:1990837]

			RNA polymerase II [GO:0006366]		
GTPase activating protein and VPS9 domains 1	A0A8I5Y674	Gapvd1	endocytosis [GO:0006897]; regulation of protein transport [GO:0051223]	cytosol [GO:0005829]; endocytic vesicle [GO:0030139]; membrane [GO:0016020]	GTPase activating protein binding [GO:0032794]; guanyl-nucleotide exchange factor activity [GO:0005085]; small GTPase binding [GO:0031267]
Guanine nucleotide-binding protein-like 3 (Nucleolar GTP-binding protein 3) (Nucleostemin)	Q811S9	Gnl3 Ns	positive regulation of miRNA transcription [GO:1902895]; positive regulation of protein localization to chromosome, telomeric region [GO:1904816]; positive regulation of protein sumoylation [GO:0033235]; positive regulation of telomere maintenance [GO:0032206]; regulation of cell	chromosome [GO:0005694]; midbody [GO:0030496]; nuclear body [GO:0016604]; nucleolus [GO:0005730]; nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]	GTP binding [GO:0005525]; mRNA 5'-UTR binding [GO:0048027]

			population proliferation [GO:0042127]; stem cell division [GO:0017145]; stem cell population maintenance [GO:0019827]		
guanylate cyclase (EC 4.6.1.2)	A0A8I6AGA3	Gucy1a2			guanylate cyclase activity [GO:0004383]; heme binding [GO:0020037]
Hemoglobin, beta adult major chain	A0A0G2JSW3	Hbb Hbb-b1 Hbb-b2 Hbb-bs LOC100134871 LOC120093065	erythrocyte development [GO:0048821]; myeloid cell differentiation [GO:0030099]; oxygen transport [GO:0015671]; positive regulation of myeloid cell differentiation [GO:0045639]; regulation of erythrocyte	hemoglobin complex [GO:0005833]	heme binding [GO:0020037]; metal ion binding [GO:0046872]; oxygen binding [GO:0019825]; oxygen carrier activity [GO:0005344]

			differentiation [GO:0045646]		
Hemoglobin, beta adult s chain	A0A8I6ASA5	LOC100134871 LOC103694857			
Heparan sulfate proteoglycan 2	A0A8I6A2S5	Hspg2	animal organ regeneration [GO:0031100]; brain development [GO:0007420]; cardiac muscle tissue development [GO:0048738]; cartilage development involved in endochondral bone morphogenesis [GO:0060351]; chondrocyte differentiation [GO:0002062]; embryo implantation [GO:0007566]; embryonic skeletal system morphogenesis	basement membrane [GO:0005604]; collagen-containing extracellular matrix [GO:0062023]; extracellular matrix [GO:0031012]; extracellular region [GO:0005576]	calcium ion binding [GO:0005509]; collagen V binding [GO:0070052]; protease binding [GO:0002020]

			[GO:0048704]; endochondral ossification [GO:0001958]; extracellular matrix organization [GO:0030198]; negative regulation of amyloid fibril formation [GO:1905907]; negative regulation of cell adhesion [GO:0007162]; negative regulation of cell population proliferation [GO:0008285]; positive regulation of endothelial cell proliferation [GO:0001938]; protein localization [GO:0008104]; receptor-mediated endocytosis		

			[GO:0006898]; response to hypoxia [GO:0001666]; response to xenobiotic stimulus [GO:0009410]; smoothened signaling pathway [GO:0007224]		
Histone acetyltransferase (EC 2.3.1.48)	A0A8I6AJG3	Kat5	apoptotic process [GO:0006915]; cellular response to estradiol stimulus [GO:0071392]; cellular response to glucose starvation [GO:0042149]; cellular response to glucose stimulus [GO:0071333]; DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator resulting in transcription of p21 class mediator	cytosol [GO:0005829]; kinetochore [GO:0000776]; mitotic spindle pole [GO:0097431]; nucleolus [GO:0005730]; nucleosome [GO:0000786]; Piccolo NuA4 histone acetyltransferase complex [GO:0032777]; site of double-strand break	chromatin binding [GO:0003682]; DNA- binding transcription factor binding [GO:0140297]; histone H2AK5 acetyltransferase activity [GO:0043999]; histone H4K16 acetyltransferase activity [GO:0046972]; peptide butyryltransferase activity [GO:0140065]; peptide crotonyltransferase activity [GO:0140064]; transcription coactivator activity [GO:0003713]

			[GO:0006978]; DNA repair-dependent chromatin remodeling [GO:0140861]; double-strand break repair via homologous recombination [GO:0000724]; establishment of mitotic spindle orientation [GO:0000132]; lipid droplet disassembly [GO:1905691]; negative regulation of double-strand break repair via homologous recombination [GO:2000042]; negative regulation of interleukin-2 production [GO:0032703];	[GO:0035861]; Swr1 complex [GO:0000812]; transcription regulator complex [GO:0005667]	

			negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]; neural tube development [GO:0021915]; neurogenesis [GO:0022008]; nucleotide-excision repair [GO:0006289]; positive regulation of attachment of mitotic spindle microtubules to kinetochore [GO:1902425]; positive regulation of autophagy [GO:0010508]; positive regulation of circadian rhythm [GO:0042753]; positive regulation of double-strand break repair via		

			homologous recombination [GO:1905168]; positive regulation of mitotic sister chromatid segregation [GO:0062033]; positive regulation of myoblast differentiation [GO:0045663]; positive regulation of protein acetylation [GO:1901985]; positive regulation of regulatory T cell differentiation [GO:0045591]; positive regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0045944]; positive regulation of triglyceride biosynthetic process		

			[GO:0010867]; proteasome- mediated ubiquitin- dependent protein catabolic process [GO:0043161]; regulation of hematopoietic stem cell differentiation [GO:1902036]; response to ionizing radiation [GO:0010212]; sperm DNA condensation [GO:0035092]		
histone acetyltransferase (EC 2.3.1.48)	A0A8I6GLZ3	Kat6b	cellular response to leukemia inhibitory factor [GO:1990830]; chromatin remodeling [GO:0006338]; negative regulation of DNA-templated transcription	MOZ/MORF histone acetyltransferase complex [GO:0070776]; nucleosome [GO:0000786]; nucleus [GO:0005634]	DNA binding [GO:0003677]; histone acetyltransferase activity [GO:0004402]; histone H3K14 acetyltransferase activity [GO:0036408]; metal ion binding [GO:0046872]; peptide- lysine-N- acetyltransferase activity

			[GO:0045892]; nucleosome assembly [GO:0006334]; positive regulation of DNA-templated transcription [GO:0045893]; positive regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0045944]; regulation of DNA- templated transcription [GO:0006355]		[GO:0061733]; protein- containing complex binding [GO:0044877]; transcription coactivator activity [GO:0003713]
IF rod domain-containing protein	A0A0G2JUG1	AABR07001416.1	intermediate filament organization [GO:0045109]; keratinization [GO:0031424]	keratin filament [GO:0045095]	structural constituent of skin epidermis [GO:0030280]
Immunoglobulin (CD79A) binding protein 1b	D3ZMB4	Igbp1b	regulation of dephosphorylation [GO:0035303]; regulation of signal transduction	cytosol [GO:0005829]	protein phosphatase 2A binding [GO:0051721]

			[GO:0009966]		
Importin 9	D4A857	Ipo9	proteasome localization [GO:0031144]; protein import into nucleus [GO:0006606]	cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]; nuclear envelope [GO:0005635]	histone binding [GO:0042393]; histone chaperone activity [GO:0140713]; nuclear import signal receptor activity [GO:0061608]; small GTPase binding [GO:0031267]
Integrin beta	A0A0G2K4V5	Itgb4	autophagy [GO:0006914]; cell- matrix adhesion [GO:0007160]; filopodium assembly [GO:0046847]; hemidesmosome assembly [GO:0031581]; integrin-mediated signaling pathway [GO:0007229]; mesodermal cell differentiation [GO:0048333]; nail development [GO:0035878];	basal plasma membrane [GO:0009925]; basement membrane [GO:0005604]; cell leading edge [GO:0031252]; cell surface [GO:0009986]; hemidesmosome [GO:0030056]; integrin complex [GO:0008305]; nuclear membrane [GO:0031965]; nucleolus [GO:0005730]	G protein-coupled receptor binding [GO:0001664]; insulin- like growth factor I binding [GO:0031994]; neuregulin binding [GO:0038132]

			peripheral nervous system myelin formation [GO:0032290]; response to wounding [GO:0009611]; skin morphogenesis [GO:0043589]; trophoblast cell migration [GO:0061450]		
Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3	A0A8I5ZPG2	Itih3	hyaluronan metabolic process [GO:0030212]	extracellular region [GO:0005576]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]
Interferon-induced protein 44-like	A0A8I6AEX3	Ifi44l	immune response [GO:0006955]		GTP binding [GO:0005525]
Interphotoreceptor matrix proteoglycan 1 (Sialoprotein associated with cones and rods)	A0A8I6ALU8	Impg1	visual perception [GO:0007601]	cell projection [GO:0042995]; extracellular region [GO:0005576]; interphotoreceptor matrix [GO:0033165]	heparin binding [GO:0008201]
IZUMO family member 2	M0R6I5	Izumo2			
Jupiter microtubule associated	A0A8L2R4T4	Jpt2		cytoplasm	

homolog 2				[GO:0005737]; nucleus [GO:0005634]	
Keratin 4	A0A0G2K6P7	Krt4	cytoskeleton organization [GO:0007010]; epithelial cell differentiation [GO:0030855]; negative regulation of epithelial cell proliferation [GO:0050680]	cell surface [GO:0009986]; keratin filament [GO:0045095]	
Keratin 73	A0A0G2JXH6	Krt73		keratin filament [GO:0045095]	
Keratin, type I cytoskeletal 10 (Cytokeratin-10) (Keratin-10)	A0A0G2K2V6	Krt10	keratinocyte differentiation [GO:0030216]; protein heterotetramerization [GO:0051290]	cornified envelope [GO:0001533]; cytoplasm [GO:0005737]; keratin filament [GO:0045095]	protein heterodimerization activity [GO:0046982]; structural constituent of skin epidermis [GO:0030280]
Keratin, type II cytoskeletal 1 (Cytokeratin-1) (Keratin-1) (Type-II keratin Kb1)	A0A0G2JST3	Krt1	complement activation, lectin pathway [GO:0001867]; establishment of skin	cornified envelope [GO:0001533]; cytoplasm [GO:0005737]; keratin filament	carbohydrate binding [GO:0030246]; protein heterodimerization activity [GO:0046982]; structural constituent of

			barrier [GO:0061436]; negative regulation of inflammatory response [GO:0050728]; protein heterotetramerization [GO:0051290]	[GO:0045095]	skin epidermis [GO:0030280]
Kinesin-like protein	E9PSL8	Kif6	microtubule-based movement [GO:0007018]; spermatogenesis [GO:0007283]	kinesin complex [GO:0005871]; male germ cell nucleus [GO:0001673]; microtubule [GO:0005874]	ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]; microtubule binding [GO:0008017]; microtubule motor activity [GO:0003777]
Lamin B1	A0A8I6ACW5	Lmnbl		intermediate filament [GO:0005882]; nuclear envelope [GO:0005635]; nuclear lamina [GO:0005652]	
Large ribosomal subunit protein bL17m (39S ribosomal protein L17, mitochondrial)	A0A8I6A9S2	Mrpl17	translation [GO:0006412]	ribonucleoprotein complex [GO:1990904];	structural constituent of ribosome [GO:0003735]

				ribosome [GO:0005840]	
L-threonine dehydrogenase	D3ZN15	Tdh	threonine catabolic process [GO:0006567]		identical protein binding [GO:0042802]; L- threonine 3- dehydrogenase activity [GO:0008743]
Lysozyme f1 (Similar to RIKEN cDNA 9530003J23)	D4A0W2	RGD1306474 Lyzf1	defense response to Gram-negative bacterium [GO:0050829]; defense response to Gram-positive bacterium [GO:0050830]		lysozyme activity [GO:0003796]
Male-specific lethal 3-like 2 (Drosophila)	Q6AYG1	Msl3l2	chromatin organization [GO:0006325]; regulation of DNA- templated transcription [GO:0006355]	MSL complex [GO:0072487]; NuA4 histone acetyltransferase complex [GO:0035267]; nucleus [GO:0005634]	
Mediator complex subunit 12L	A0A0G2JV69	Med12l	regulation of transcription by RNA polymerase II	mediator complex [GO:0016592]	beta-catenin binding [GO:0008013]; transcription coregulator

			[GO:0006357]		activity [GO:0003712]
Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 4 (Mediator complex subunit 4)	A0A8I5Y634	Med4 MED4	regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0006357]	mediator complex [GO:0016592]	transcription coregulator activity [GO:0003712]
MIA SH3 domain ER export factor 2	A0A8I5ZSK4	Mia2	cholesterol homeostasis [GO:0042632]; endoplasmic reticulum to Golgi vesicle-mediated transport [GO:0006888]; protein secretion [GO:0009306]; triglyceride homeostasis [GO:0070328]; vesicle cargo loading [GO:0035459]	endoplasmic reticulum exit site [GO:0070971]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]	
Mitochondrial translation release factor 1 like	A0A8L2QF03	Mtrf1l	mitochondrial translational termination [GO:0070126]	mitochondrion [GO:0005739]	translation release factor activity, codon specific [GO:0016149]
Mitogen-activated protein kinase 12	A0A8I6A4Z8	Mapk12			ATP binding [GO:0005524]; MAP

					kinase activity [GO:0004707]
Mtr4 exosome RNA helicase	A0A8I5Y1Z8	Mtrex	DNA damage response [GO:0006974]; maturation of 5.8S rRNA [GO:0000460]; RNA catabolic process [GO:0006401]; rRNA processing [GO:0006364]	catalytic step 2 spliceosome [GO:0071013]; nucleus [GO:0005634]; TRAMP complex [GO:0031499]	ATP binding [GO:0005524]; hydrolase activity [GO:0016787]; RNA binding [GO:0003723]; RNA helicase activity [GO:0003724]
Myosin XVIIIa	A0A0G2JY08	Myo18a		myosin complex [GO:0016459]	actin binding [GO:0003779]; ATP binding [GO:0005524]; cytoskeletal motor activity [GO:0003774]
Myosin XVIIIa	A0A8I6A163	Myo18a	actomyosin structure organization [GO:0031032]; asymmetric Golgi ribbon formation [GO:0090164]; cell migration [GO:0016477]; Golgi vesicle	actomyosin [GO:0042641]; Golgi membrane [GO:0000139]; myosin complex [GO:0016459]; trans-Golgi network [GO:0005802]	actin filament binding [GO:0051015]; ADP binding [GO:0043531]; ATP binding [GO:0005524]; cytoskeletal motor activity [GO:0003774]

			budding [GO:0048194]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; positive regulation of opsonization [GO:1903028]; positive regulation of protein secretion [GO:0050714]; regulation of macrophage activation [GO:0043030]		
NEDD4 binding protein 2	A0A8I6A1M1	N4bp2		cytosol [GO:0005829]	ATP binding [GO:0005524]; ATP- dependent polydeoxyribonucleotide 5'-hydroxyl-kinase activity [GO:0046404]; DNA endonuclease activity [GO:0004520]; endonuclease activity [GO:0004519]; ubiquitin binding [GO:0043130]

Neurexophilin and PC-esterase domain family member 4	A0A8I6AKA8	Nxpe4			
Neuromedin-S	Q5H8A2	Nms	locomotor rhythm [GO:0045475]; neuropeptide signaling pathway [GO:0007218]	extracellular region [GO:0005576]	G protein-coupled receptor binding [GO:0001664]
Nexilin (F actin binding protein)	A0A0G2K6I3	Nexn			
NLR family member X1	A0A0G2K1Q1	Nlr1	innate immune response [GO:0045087]; negative regulation of canonical NF- kappaB signal transduction [GO:0043124]; negative regulation of inflammatory response [GO:0050728]; negative regulation of innate immune response [GO:0045824]; negative regulation	mitochondrion [GO:0005739]; plasma membrane [GO:0005886]	

			of interferon-beta production [GO:0032688]; negative regulation of interleukin-6 production [GO:0032715]; negative regulation of macrophage cytokine production [GO:0010936]; negative regulation of RIG-I signaling pathway [GO:0039536]		
non-specific serine/threonine protein kinase (EC 2.7.11.1)	A0A0G2K2Y2	Wnk3	cell volume homeostasis [GO:0006884]; cellular hyperosmotic response [GO:0071474]; intracellular signal transduction [GO:0035556]; maintenance of	adherens junction [GO:0005912]; bicellular tight junction [GO:0005923]; cytoplasm [GO:0005737]; cytosol [GO:0005829]	ATP binding [GO:0005524]; molecular condensate scaffold activity [GO:0140693]; potassium channel inhibitor activity [GO:0019870]; protein kinase activity [GO:0004672]; protein serine/threonine kinase

			blood-brain barrier [GO:0035633]; monoatomic ion homeostasis [GO:0050801]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066]; negative regulation of pancreatic juice secretion [GO:0090188]; negative regulation of protein localization to plasma membrane [GO:1903077]; negative regulation of sodium ion transport [GO:0010766]; non- membrane-bounded organelle assembly [GO:0140694]; osmosensory signaling pathway		activity [GO:0004674]

			[GO:0007231]; phosphorylation [GO:0016310]; positive regulation of calcium ion transport [GO:0051928]; positive regulation of peptidyl-threonine phosphorylation [GO:0010800]; positive regulation of potassium ion import across plasma membrane [GO:1903288]; positive regulation of protein localization to plasma membrane [GO:1903078]; positive regulation of sodium ion transport [GO:0010765]; protein localization to plasma membrane [GO:0072659]; regulation of calcium		

			ion import [GO:0090279]; regulation of monoatomic cation transmembrane transport [GO:1904062]		
NPC intracellular cholesterol transporter 1	A0A8I6AL97	Npc1	adult walking behavior [GO:0007628]; autophagy [GO:0006914]; cellular response to low-density lipoprotein particle stimulus [GO:0071404]; cellular response to steroid hormone stimulus [GO:0071383]; cholesterol efflux [GO:0033344]; cholesterol homeostasis [GO:0042632];	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; endosome [GO:0005768]; extracellular region [GO:0005576]; Golgi apparatus [GO:0005794]; lysosomal membrane [GO:0005765]; lysosome [GO:0005764]; membrane [GO:0016020]; membrane raft [GO:0045121]; nuclear envelope [GO:0005635];	cholesterol binding [GO:0015485]; lipid transporter activity [GO:0005319]

			cholesterol storage [GO:0010878]; cholesterol transport [GO:0030301]; cyclodextrin metabolic process [GO:2000900]; endocytosis [GO:0006897]; establishment of localization in cell [GO:0051649]; establishment of protein localization to membrane [GO:0090150]; gene expression [GO:0010467]; intestinal cholesterol absorption [GO:0030299]; intracellular cholesterol transport [GO:0032367]; liver development [GO:0001889];	perinuclear region of cytoplasm [GO:0048471]; plasma membrane [GO:0005886]; vesicle [GO:0031982]	

			macroautophagy [GO:0016236]; membrane raft organization [GO:0031579]; negative regulation of epithelial cell apoptotic process [GO:1904036]; negative regulation of macroautophagy [GO:0016242]; negative regulation of TORC1 signaling [GO:1904262]; neurogenesis [GO:0022008]; programmed cell death [GO:0012501]; protein glycosylation [GO:0006486]; response to cadmium ion [GO:0046686]; response to xenobiotic stimulus [GO:0009410];		

			sterol metabolic process [GO:0016125]; sterol transport [GO:0015918]; viral entry into host cell [GO:0046718]		
Nuclear receptor binding SET domain protein 2	A0A8I5ZU53	Nsd2	atrial septum primum morphogenesis [GO:0003289]; atrial septum secundum morphogenesis [GO:0003290]; bone development [GO:0060348]; membranous septum morphogenesis [GO:0003149]; negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]; positive regulation of isotype switching to IgA isotypes	chromatin [GO:0000785]; nucleus [GO:0005634]	chromatin binding [GO:0003682]; histone H3K36 methyltransferase activity [GO:0046975]; histone H3K36 trimethyltransferase activity [GO:0140955]; histone methyltransferase activity [GO:0042054]; sequence-specific DNA binding [GO:0043565]

			[GO:0048298]; regulation of DNA- templated transcription [GO:0006355]; regulation of double- strand break repair via nonhomologous end joining [GO:2001032]; regulation of establishment of protein localization [GO:0070201]		
Nucleoprotein TPR	A0A8I6ALQ6	Tpr	protein import into nucleus [GO:0006606]	nuclear periphery [GO:0034399]; nuclear pore [GO:0005643]	
Obscurin like cytoskeletal adaptor 1	A0A8I6AIN9	Obsl1			
Olfactory receptor	A0A0G2K7R4	Or9g19	G protein-coupled receptor signaling pathway [GO:0007186]; sensory perception of smell	plasma membrane [GO:0005886]	G protein-coupled receptor activity [GO:0004930]; odorant binding [GO:0005549]; olfactory receptor activity [GO:0004984]

			[GO:0007608]		
Olfactory receptor	D4A0G4	Or8b1c	G protein-coupled receptor signaling pathway [GO:0007186]; sensory perception of smell [GO:0007608]	plasma membrane [GO:0005886]	G protein-coupled receptor activity [GO:0004930]; odorant binding [GO:0005549]; olfactory receptor activity [GO:0004984]
Olfactory receptor	D4ACI2	Or52k2		plasma membrane [GO:0005886]	G protein-coupled receptor activity [GO:0004930]; olfactory receptor activity [GO:0004984]
Orexin receptor type 2 (Ox-2-R) (Ox2-R) (Ox2R) (Hypocretin receptor type 2)	P56719	Hcrtr2	cellular response to hormone stimulus [GO:0032870]; circadian sleep/wake cycle process [GO:0022410]; feeding behavior [GO:0007631]; G protein-coupled receptor signaling pathway [GO:0007186]; locomotion	plasma membrane [GO:0005886]	G protein-coupled receptor activity [GO:0004930]; orexin receptor activity [GO:0016499]; peptide binding [GO:0042277]; peptide hormone binding [GO:0017046]

			[GO:0040011]; neuropeptide signaling pathway [GO:0007218]; phospholipase C- activating G protein- coupled receptor signaling pathway [GO:0007200]; regulation of circadian sleep/wake cycle, wakefulness [GO:0010840]; regulation of cytosolic calcium ion concentration [GO:0051480]		
Palmitoyltransferase (EC 2.3.1.225)	F7F2Z1	Zdhc1	antiviral innate immune response [GO:0140374]; positive regulation of defense response to virus by host [GO:0002230]; positive regulation of protein localization	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; endosome membrane [GO:0010008]; Golgi apparatus	palmitoyltransferase activity [GO:0016409]; protein-cysteine S- palmitoyltransferase activity [GO:0019706]

			to endosome [GO:1905668]; positive regulation of protein oligomerization [GO:0032461]; protein targeting to membrane [GO:0006612]	[GO:0005794]	
PAN2-PAN3 deadenylation complex subunit PAN3 (PAB1P-dependent poly(A)- specific ribonuclease) (Poly(A)- nuclease deadenylation complex subunit 3) (PAN deadenylation complex subunit 3)	D4ADM2	Pan3 PAN3	deadenylation- dependent decapping of nuclear- transcribed mRNA [GO:0000290]; mRNA processing [GO:0006397]; nuclear-transcribed mRNA poly(A) tail shortening [GO:0000289]; positive regulation of cytoplasmic mRNA processing body assembly [GO:0010606]; protein targeting	P-body [GO:0000932]; PAN complex [GO:0031251]	ATP binding [GO:0005524]; metal ion binding [GO:0046872]; poly(A) binding [GO:0008143]; poly(A)- specific ribonuclease activity [GO:0004535]; protein kinase activity [GO:0004672]

			[GO:0006605]		
Papilin, proteoglycan-like sulfated glycoprotein	A0A8I5ZRY8	Papln	extracellular matrix organization [GO:0030198]	basement membrane [GO:0005604]; extracellular region [GO:0005576]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]
PDZ and LIM domain protein 1 (C-terminal LIM domain protein 1) (Elfin) (LIM domain protein CLP-36)	P52944	Pdlim1 Clim1 Clp36	actin cytoskeleton organization [GO:0030036]; establishment or maintenance of actin cytoskeleton polarity [GO:0030950]; fibroblast migration [GO:0010761]; heart development [GO:0007507]; maintenance of cell polarity [GO:0030011]; muscle structure development [GO:0061061]; positive regulation of DNA-templated transcription [GO:0045893];	actin cytoskeleton [GO:0015629]; adherens junction [GO:0005912]; cytoplasm [GO:0005737]; cytoskeleton [GO:0005856]; filamentous actin [GO:0031941]; stress fiber [GO:0001725]; transcription regulator complex [GO:0005667]; Z disc [GO:0030018]	actin binding [GO:0003779]; metal ion binding [GO:0046872]; muscle alpha-actinin binding [GO:0051371]; transcription coactivator activity [GO:0003713]

			regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0006357]; response to hypoxia [GO:0001666]; stress fiber assembly [GO:0043149]		
Peptidase S1 domain-containing protein	A0A8I6AQG9	ENSRNOG00000068886	proteolysis [GO:0006508]		serine-type endopeptidase activity [GO:0004252]
peptidylprolyl isomerase (EC 5.2.1.8)	A0A096MJW1	Fkbp10	aorta morphogenesis [GO:0035909]; collagen fibril organization [GO:0030199]; extracellular matrix assembly [GO:0085029]; in utero embryonic development [GO:0001701]; protein folding [GO:0006457]; wound healing [GO:0042060]	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; membrane [GO:0016020]; mitochondrial intermembrane space [GO:0005758]	calcium ion binding [GO:0005509]; FK506 binding [GO:0005528]; peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity [GO:0003755]

Period circadian protein homolog 1	A0A0H2UHZ7	Per1	chromatin remodeling [GO:0006338]; circadian regulation of gene expression [GO:0032922]; circadian regulation of translation [GO:0097167]; entrainment of circadian clock by photoperiod [GO:0043153]; negative regulation of glucocorticoid receptor signaling pathway [GO:2000323]; negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]; positive regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0045944];	cytosol [GO:0005829]; nucleoplasm [GO:0005654]	chromatin DNA binding [GO:0031490]; DNA-binding transcription factor binding [GO:0140297]; E-box binding [GO:0070888]; kinase binding [GO:0019900]; ubiquitin protein ligase binding [GO:0031625]

			regulation of hair cycle [GO:0042634]; regulation of sodium ion transport [GO:0002028]; response to cAMP [GO:0051591]		
PHD finger protein 12	A0A1W2Q657	Phf12	negative regulation of DNA-templated transcription [GO:0045892]; negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]	nucleus [GO:0005634]; Sin3 complex [GO:0016580]; Sin3-type complex [GO:0070822]; transcription repressor complex [GO:0017053]	metal ion binding [GO:0046872]; phosphatidylinositol binding [GO:0035091]; transcription corepressor activity [GO:0003714]; transcription corepressor binding [GO:0001222]
Phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit type 3 (EC 2.7.1.137)	A0A8I5ZQC6	Pik3c3	phosphatidylinositol-mediated signaling [GO:0048015]; phosphorylation [GO:0016310]		1-phosphatidylinositol-3-kinase activity [GO:0016303]; ATP binding [GO:0005524]
Phosphodiesterase (EC 3.1.4.-)	A0A8I6A6R9	Pde6c	phototransduction, visible light [GO:0007603]; retinal cone cell development		3',5'-cyclic-nucleotide phosphodiesterase activity [GO:0004114]; metal ion binding [GO:0046872]

			[GO:0046549]; sensory perception of light stimulus [GO:0050953]; signal transduction [GO:0007165]; visual perception [GO:0007601]		
Phosphoglucomutase 1	A0A8I5ZRI9	Pgm1	carbohydrate metabolic process [GO:0005975]		magnesium ion binding [GO:0000287]; phosphoglucomutase activity [GO:0004614]
Piccolo (presynaptic cytomatrix protein)	F1M7V4	Pclo		cell projection [GO:0042995]; membrane [GO:0016020]; organelle [GO:0043226]; presynaptic active zone [GO:0048786]	metal ion binding [GO:0046872]
Poly [ADP-ribose] polymerase (PARP) (EC 2.4.2.-)	F1M9T2	Parp8	endoplasmic reticulum unfolded protein response [GO:0030968]	endoplasmic reticulum tubular network [GO:0071782]; nuclear envelope [GO:0005635]	kinase binding [GO:0019900]; NAD+ ADP-ribosyltransferase activity [GO:0003950]; NAD+-protein ADP- ribosyltransferase

					activity [GO:1990404]; protein serine/threonine kinase activator activity [GO:0043539]
Potassium channel tetramerization domain containing 2	F1M5Q3	Kctd2	proteasome- mediated ubiquitin- dependent protein catabolic process [GO:0043161]; protein homooligomerization [GO:0051260]	Cul3-RING ubiquitin ligase complex [GO:0031463]; cytoplasm [GO:0005737]	cullin family protein binding [GO:0097602]; protein-containing complex binding [GO:0044877]
Probable splicing factor YJU2B (Coiled-coil domain-containing protein 130)	Q32PZ9	Yju2b Ccdc130	mRNA splicing, via spliceosome [GO:0000398]; response to virus [GO:0009615]; RNA splicing [GO:0008380]	post-mRNA release spliceosomal complex [GO:0071014]; U2- type spliceosomal complex [GO:0005684]	
Probasin	A0A8L2QLQ0	Pbsn		extracellular region [GO:0005576]	small molecule binding [GO:0036094]
Proline-rich coiled-coil 2C	A0A8I5Y7A0	Prrc2c	hematopoietic progenitor cell differentiation [GO:0002244]; stress granule		

			assembly [GO:0034063]		
Prostaglandin reductase 1 (EC 1.3.1.48) (EC 1.3.1.74) (15-oxoprostaglandin 13-reductase) (Dithiolethione-inducible gene 1 protein) (Leukotriene B4 12-hydroxydehydrogenase) (NAD(P)H-dependent alkenal/one oxidoreductase)	A0A8L2QAI5	Ptgr1		cytoplasm [GO:0005737]	13-prostaglandin reductase activity [GO:0036132]; 15-oxoprostaglandin 13-oxidase activity [GO:0047522]; 2-alkenal reductase (NADP+) activity [GO:0035798]
Protein MTO1 homolog, mitochondrial	F1LYH3	Mto1	mitochondrial tRNA wobble uridine modification [GO:0070899]; tRNA methylation [GO:0030488]; tRNA wobble uridine modification [GO:0002098]	cytosol [GO:0005829]; mitochondrion [GO:0005739]	flavin adenine dinucleotide binding [GO:0050660]
Protein phosphatase 2 scaffold subunit A beta	A0A8I5Y6R7	Ppp2r1b			
protein-serine/threonine phosphatase (EC 3.1.3.16)	A0A8I6A2G7	Ssh1	actin cytoskeleton organization [GO:0030036]; cell morphogenesis [GO:0000902];	cell leading edge [GO:0031252]; cell projection [GO:0042995]; cytoplasm	actin binding [GO:0003779]; phosphoprotein phosphatase activity [GO:0004721]; protein

			cellular response to ATP [GO:0071318]; dephosphorylation [GO:0016311]; excitatory chemical synaptic transmission [GO:0098976]; negative regulation of actin filament polymerization [GO:0030837]; positive regulation of AMPA glutamate receptor clustering [GO:1904719]; positive regulation of excitatory postsynaptic potential [GO:2000463]; positive regulation of synaptic plasticity [GO:0031915]; positive regulation of vascular associated	[GO:0005737]; growth cone [GO:0030426]; plasma membrane [GO:0005886]; synapse [GO:0045202]	tyrosine/serine/threonine phosphatase activity [GO:0008138]

			smooth muscle cell migration [GO:1904754]; regulation of protein metabolic process [GO:0051246]		
protein-serine/threonine phosphatase (EC 3.1.3.16)	A0A8I6GLT1	Ctdnep1	canonical Wnt signaling pathway [GO:0060070]; gamete generation [GO:0007276]; mesoderm development [GO:0007498]; nuclear envelope organization [GO:0006998]; positive regulation of canonical Wnt signaling pathway [GO:0090263]; positive regulation of triglyceride biosynthetic process [GO:0010867]; protein localization	endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]; lipid droplet [GO:0005811]; Nem1-Spo7 phosphatase complex [GO:0071595]; nuclear membrane [GO:0031965]	protein serine/threonine phosphatase activity [GO:0004722]

			to nucleus [GO:0034504]		
protein-tyrosine-phosphatase (EC 3.1.3.48)	A0A0G2K2W0	Ptpnb	angiogenesis [GO:0001525]; dephosphorylation [GO:0016311]; glial cell migration [GO:0008347]; protein modification process [GO:0036211]	membrane [GO:0016020]; receptor complex [GO:0043235]	cadherin binding [GO:0045296]; carbohydrate binding [GO:0030246]; protein tyrosine phosphatase activity [GO:0004725]
proton-translocating NAD(P)(+) transhydrogenase (EC 7.1.1.1)	A0A8I6AQG5	Nnt	cell redox homeostasis [GO:0045454]; cellular oxidant detoxification [GO:0098869]; intracellular oxygen homeostasis [GO:0032364]; NADPH regeneration [GO:0006740]; negative regulation of apoptotic process [GO:0043066];	membrane [GO:0016020]; mitochondrion [GO:0005739]	NAD(P)+ transhydrogenase activity [GO:0008746]; NADP binding [GO:0050661]

			negative regulation of protein phosphorylation [GO:0001933]; positive regulation of hydrogen peroxide catabolic process [GO:1903285]; positive regulation of mitochondrial membrane potential [GO:0010918]; proton transmembrane transport [GO:1902600]; reactive oxygen species metabolic process [GO:0072593]; response to vitamin [GO:0033273]		
Purinergic receptor P2Y14	Q5XIX4	P2ry14		membrane [GO:0016020]	G protein-coupled purinergic nucleotide receptor activity [GO:0045028]

Putative heme oxygenase 3 (HO-3) (EC 1.14.14.18)	O70453	Hmox3	heme catabolic process [GO:0042167]; heme oxidation [GO:0006788]; response to oxidative stress [GO:0006979]		heme binding [GO:0020037]; heme oxygenase (decyclizing) activity [GO:0004392]; metal ion binding [GO:0046872]
RAD51 paralog B	A0A0G2JTF1	Rad51b	blastocyst growth [GO:0001832]; double-strand break repair via homologous recombination [GO:0000724]; in utero embryonic development [GO:0001701]; positive regulation of cell population proliferation [GO:0008284]; positive regulation of G2/M transition of mitotic cell cycle [GO:0010971]; somite development	Rad51B-Rad51C-Rad51D-XRCC2 complex [GO:0033063]; replication fork [GO:0005657]	ATP binding [GO:0005524]; ATP-dependent activity, acting on DNA [GO:0008094]; ATP-dependent DNA damage sensor activity [GO:0140664]; double-stranded DNA binding [GO:0003690]; single-stranded DNA binding [GO:0003697]

			[GO:0061053]		
Ras-related GTP-binding protein	A0A8I5ZR61	RragB	cellular response to amino acid stimulus [GO:0071230]; positive regulation of TOR signaling [GO:0032008]	lysosomal membrane [GO:0005765]	GTP binding [GO:0005525]
Ras-related protein Rab-4	A0A8I5ZK92	Rab4a	protein transport [GO:0015031]; Rab protein signal transduction [GO:0032482]; regulation of endocytosis [GO:0030100]	cytoplasmic vesicle membrane [GO:0030659]; endosome [GO:0005768]; plasma membrane [GO:0005886]	GTP binding [GO:0005525]; GTPase activity [GO:0003924]
Retrotransposon Gag like 9	M0R6H3	Rtl9 LOC100912526 Rgag1			
Ring finger protein 180	A0A8I5ZZU5	Rnf180	adult behavior [GO:0030534]; norepinephrine metabolic process [GO:0042415]; organic cyclic compound metabolic process [GO:1901360];	endoplasmic reticulum membrane [GO:0005789]	metal ion binding [GO:0046872]; ubiquitin conjugating enzyme binding [GO:0031624]; ubiquitin protein ligase activity [GO:0061630]

			positive regulation of proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:0032436]; positive regulation of protein ubiquitination [GO:0031398]; protein polyubiquitination [GO:0000209]; serotonin metabolic process [GO:0042428]		
Ring finger protein, transmembrane 2	D3ZTN5	Rnft2	positive regulation of ERAD pathway [GO:1904294]	membrane [GO:0016020]	metal ion binding [GO:0046872]; ubiquitin protein ligase activity [GO:0061630]
RNA helicase (EC 3.6.4.13)	A0A8I5ZKB3	Ddx39a			ATP binding [GO:0005524]; hydrolase activity [GO:0016787]; nucleic acid binding [GO:0003676]; RNA

					helicase activity [GO:0003724]
Scavenger receptor class F, member 2	A0A8I6AH58	Scarf2	heterophilic cell-cell adhesion via plasma membrane cell adhesion molecules [GO:0007157]		scavenger receptor activity [GO:0005044]
Scinderin (Adseverin)	E9PU64	Scin	actin filament capping [GO:0051693]; actin filament severing [GO:0051014]; actin polymerization or depolymerization [GO:0008154]; barbed-end actin filament capping [GO:0051016]; cell projection assembly [GO:0030031]; central nervous system development [GO:0007417]; negative regulation of cell population proliferation	actin cytoskeleton [GO:0015629]; brush border [GO:0005903]; cytoplasm [GO:0005737]; protein-containing complex [GO:0032991]	actin filament binding [GO:0051015]; phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate binding [GO:0005546]

			[GO:0008285]; positive regulation of actin nucleation [GO:0051127]; positive regulation of apoptotic process [GO:0043065]; positive regulation of megakaryocyte differentiation [GO:0045654]; sequestering of actin monomers [GO:0042989]		
Semenogelin 1	Q6P6X2	Semg1			
Seminal vesicle secretory protein 3B	D3ZAT0	Svs3b	coagulation [GO:0050817]; negative regulation of flagellated sperm motility [GO:1901318]; sperm capacitation [GO:0048240]	extracellular region [GO:0005576]	
Seminal vesicle secretory protein 4	A0A0G2JSZ2	Svs4		extracellular region [GO:0005576]	
Seminal vesicle secretory protein	A0A0G2JTC7	Svs5		extracellular region	

5				[GO:0005576]	
Seminal vesicle secretory protein 6	D3ZJA4	Svs6		extracellular space [GO:0005615]	
Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A, member 3C	A0A0G2JSK1	Serpina3c	negative regulation of angiogenesis [GO:0016525]; negative regulation of endothelial cell proliferation [GO:0001937]; positive regulation of apoptotic process [GO:0043065]	extracellular space [GO:0005615]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]
Serine and arginine repetitive matrix 1	A0A0G2K4F6	Srrm1	localization [GO:0051179]; mRNA processing [GO:0006397]; regulation of mRNA splicing, via spliceosome [GO:0048024]	catalytic step 2 spliceosome [GO:0071013]; membrane [GO:0016020]; spliceosomal complex [GO:0005681]	
Serine protease 1 (EC 3.4.21.4) (Anionic trypsin I) (Anionic trypsin-1) (Beta-trypsin) (Cationic trypsinogen) (Pretrypsinogen I) (Trypsin I)	P00762	Prss1 Trp1 Try1 Tryp1	digestion [GO:0007586]; proteolysis [GO:0006508]; response to caffeine	extracellular space [GO:0005615]	metal ion binding [GO:0046872]; serine-type endopeptidase activity [GO:0004252]

(Trypsin-1)			[GO:0031000]; response to nicotine [GO:0035094]; response to nutrient [GO:0007584]; response to organic substance [GO:0010033]		
Serine protease inhibitor Kazal-type 1-like (Calcium transport inhibitor) (Caltrin) (Pancreatic secretory trypsin inhibitor II) (PSTI-II)	P09656	Spink1l Spink3		extracellular region [GO:0005576]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]
Serine/arginine repetitive matrix 2	A0A0G2K2M9	Srrm2	mRNA splicing, via spliceosome [GO:0000398]	Cajal body [GO:0015030]; catalytic step 2 spliceosome [GO:0071013]; nuclear speck [GO:0016607]; nucleus [GO:0005634]; U2- type catalytic step 2 spliceosome [GO:0071007]; U2- type precatalytic	C2H2 zinc finger domain binding [GO:0070742]; mRNA binding [GO:0003729]

				spliceosome [GO:0071005]	
Serpin family A member 5	F7EMJ6	Serpina5	negative regulation of proteolysis [GO:0045861]; seminal vesicle development [GO:0061107]; spermatogenesis [GO:0007283]	acrosomal membrane [GO:0002080]; external side of plasma membrane [GO:0009897]; extracellular exosome [GO:0070062]; extracellular space [GO:0005615]; membrane [GO:0016020]; platelet alpha granule [GO:0031091]; platelet dense tubular network [GO:0031094]; protein C inhibitor- coagulation factor V complex [GO:0097181]; protein C inhibitor- coagulation factor	acrosin binding [GO:0032190]; phosphatidylcholine binding [GO:0031210]; protease binding [GO:0002020]; retinoic acid binding [GO:0001972]; serine- type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]

				Xa complex [GO:0097182]; protein C inhibitor- coagulation factor XI complex [GO:0097183]; protein C inhibitor- KLK3 complex [GO:0036029]; protein C inhibitor- plasma kallikrein complex [GO:0036030]; protein C inhibitor- PLAT complex [GO:0036026]; protein C inhibitor- PLAU complex [GO:0036027]; protein C inhibitor- thrombin complex [GO:0036028]; protein C inhibitor- TMPRSS11E complex [GO:0036025];	

				protein C inhibitor-TMPRSS7 complex [GO:0036024]; protein-containing complex [GO:0032991]	
Serpin family E member 2	A0A0G2K2I7	Serpine2		extracellular space [GO:0005615]	serine-type endopeptidase inhibitor activity [GO:0004867]
Short chain dehydrogenase/reductase family 42E, member 2	A0A8I6A8Y0	Sdr42e2	steroid biosynthetic process [GO:0006694]	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; membrane [GO:0016020]	3-beta-hydroxy-delta5-steroid dehydrogenase activity [GO:0003854]
Signal recognition particle 54 kDa protein (EC 3.6.5.-)	A0A8I6A4J0	Srp54a	SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane [GO:0006614]	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; nuclear speck [GO:0016607]; signal recognition particle, endoplasmic reticulum targeting [GO:0005786]	7S RNA binding [GO:0008312]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]; GTP binding [GO:0005525]; GTPase activity [GO:0003924]
Similar to Na ⁺ dependent glucose transporter 1	M0RAV5	RGD1561777		membrane [GO:0016020]	glucose transmembrane transporter activity [GO:0005355]

Similar to Protein C7orf26 homolog	F1M0G5	Ints15		integrator complex [GO:0032039]	
Similar to RIKEN cDNA 4921536K21	D3ZFB8	C14h5orf52 RGD1308775			
Small nuclear ribonucleoprotein Sm D3 (Sm-D3) (snRNP core protein D3)	A0A8I6A3D9	LOC103694291 SNRPD3	spliceosomal snRNP assembly [GO:0000387]	cytosol [GO:0005829]; spliceosomal complex [GO:0005681]	
Small ribosomal subunit protein uS7m (28S ribosomal protein S7, mitochondrial)	A0A8I6A178	Mrps7	translation [GO:0006412]	mitochondrial small ribosomal subunit [GO:0005763]	
Small RNA binding exonuclease protection factor La	A0A8I5ZZL0	Ssb	RNA processing [GO:0006396]	nucleus [GO:0005634]; ribonucleoprotein complex [GO:1990904]	RNA binding [GO:0003723]
SOGA family member 3	A0A8I6A680	Soga3	regulation of autophagy [GO:0010506]	extracellular space [GO:0005615]; membrane [GO:0016020]	
Solute carrier family 12, member 6	A0A0G2K6T0	Slc12a6	ammonium import across plasma membrane [GO:0140157]; cell volume homeostasis	axon [GO:0030424]; basolateral plasma membrane [GO:0016323]; plasma membrane	ammonium transmembrane transporter activity [GO:0008519]; potassium:chloride

			[GO:0006884]; cellular hypotonic salinity response [GO:0071477]; cellular response to glucose stimulus [GO:0071333]; chemical synaptic transmission [GO:0007268]; chloride ion homeostasis [GO:0055064]; chloride transmembrane transport [GO:1902476]; monoatomic ion transport [GO:0006811]; potassium ion homeostasis [GO:0055075]; potassium ion import across plasma membrane	[GO:0005886]; synapse [GO:0045202]	symporter activity [GO:0015379]; protein kinase binding [GO:0019901]

			[GO:1990573]; potassium ion transmembrane transport [GO:0071805]		
Solute carrier family 25 member 23	A0A0G2JVD2	Slc25a23	adenine nucleotide transport [GO:0051503]; ADP transport [GO:0015866]; ATP transport [GO:0015867]; calcium import into the mitochondrion [GO:0036444]; cellular response to calcium ion [GO:0071277]; mitochondrial ATP transmembrane transport [GO:1990544]; mitochondrial calcium ion transmembrane transport	mitochondrial inner membrane [GO:0005743]; mitochondrion [GO:0005739]	adenine nucleotide transmembrane transporter activity [GO:0000295]; ADP:inorganic phosphate antiporter activity [GO:0140988]; ATP transmembrane transporter activity [GO:0005347]; ATP:inorganic phosphate antiporter activity [GO:0140987]; calcium ion binding [GO:0005509]

			[GO:0006851]; positive regulation of mitochondrial calcium ion concentration [GO:0051561]; regulation of cellular hyperosmotic salinity response [GO:1900069]; regulation of cellular respiration [GO:0043457]; regulation of oxidative phosphorylation [GO:0002082]; regulation of sequestering of calcium ion [GO:0051282]; renal system process [GO:0003014]		
Sulfhydryl oxidase 1 (rQSOX) (rSOx) (EC 1.8.3.2) (FAD- dependent sulfhydryl oxidase-2)	Q6IUU3	Qsox1 Qscn6 Sox2	extracellular matrix assembly [GO:0085029];	extracellular exosome [GO:0070062];	FAD binding [GO:0071949]; flavin- dependent sulfhydryl

(SOx-2) (Quiescin Q6)			negative regulation of macroautophagy [GO:0016242]; protein folding [GO:0006457]	extracellular space [GO:0005615]; Golgi membrane [GO:0000139]; intercellular bridge [GO:0045171]	oxidase activity [GO:0016971]; protein disulfide isomerase activity [GO:0003756]
Sulfhydryl oxidase 1 (rQSOX) (rSOx) (EC 1.8.3.2) (FAD-dependent sulfhydryl oxidase-2) (SOx-2) (Quiescin Q6)	Q6IUU3-2	Qsox1 Qscn6 Sox2	extracellular matrix assembly [GO:0085029]; negative regulation of macroautophagy [GO:0016242]; protein folding [GO:0006457]	extracellular exosome [GO:0070062]; extracellular space [GO:0005615]; Golgi membrane [GO:0000139]; intercellular bridge [GO:0045171]	FAD binding [GO:0071949]; flavin-dependent sulfhydryl oxidase activity [GO:0016971]; protein disulfide isomerase activity [GO:0003756]
Syntaphilin	A0A8I5ZUF6	Snph		cytoplasmic microtubule [GO:0005881]; membrane [GO:0016020]	
Tax1 binding protein 1	A0A8I6A5K4	Tax1bp1			
TBC1 domain family member 31	A0A0G2JVE4	Tbc1d31	cilium assembly [GO:0060271]	centriolar satellite [GO:0034451]; centrosome [GO:0005813]; ciliary basal body	molecular adaptor activity [GO:0060090]

				[GO:0036064]	
T-complex protein 1 subunit gamma	A0A8I5Y7A1	Cct3		chaperonin-containing T-complex [GO:0005832]	ATP binding [GO:0005524]; ATP hydrolysis activity [GO:0016887]; ATP-dependent protein folding chaperone [GO:0140662]; unfolded protein binding [GO:0051082]
Terminal nucleotidyltransferase 5C (EC 2.7.7.19)	A0A8L2UJK0	Tent5c	in utero embryonic development [GO:0001701]; mRNA stabilization [GO:0048255]; negative regulation of cell differentiation [GO:0045596]	centrosome [GO:0005813]; cytoplasm [GO:0005737]; nucleoplasm [GO:0005654]	poly(A) RNA polymerase activity [GO:1990817]
Tetratricopeptide repeat domain 17	A0A8I5ZKB8	Ttc17			
TLC domain containing 3A	A0A8I5ZT44	Tlcd3a	lipid homeostasis [GO:0055088]	endoplasmic reticulum [GO:0005783]; plasma membrane [GO:0005886]	
Trace amine-associated receptor	Q923Y2	Taar7a Ta8 Tar8 Trar8		plasma membrane	trace-amine receptor

7a (TaR-7a) (Trace amine receptor 7a) (Trace amine receptor 8) (TaR-8)				[GO:0005886]	activity [GO:0001594]
Transcription elongation factor A protein-like 1	A0A8I5Y049	Tceal1		nucleoplasm [GO:0005654]	
Transmembrane protein 44	A0A8I5YCH0	Tmem44		membrane [GO:0016020]	
Trinucleotide repeat containing adaptor 6C	A0A8I5Y248	Tnrc6c	embryonic hemopoiesis [GO:0035162]; embryonic organ development [GO:0048568]; endoderm development [GO:0007492]; endoderm formation [GO:0001706]; lung saccul development [GO:0060430]; miRNA-mediated post-transcriptional gene silencing [GO:0035195]; positive regulation of nuclear-transcribed	nucleoplasm [GO:0005654]; P-body [GO:0000932]	nucleic acid binding [GO:0003676]

			mRNA catabolic process, deadenylation-dependent decay [GO:1900153]; positive regulation of nuclear-transcribed mRNA poly(A) tail shortening [GO:0060213]; regulation of miRNA-mediated gene silencing [GO:0060964]; transforming growth factor beta receptor signaling pathway [GO:0007179]		
tRNA-splicing endonuclease subunit Sen2 (EC 4.6.1.16) (tRNA-intron endonuclease Sen2)	Q5M954	Tsen2	mRNA processing [GO:0006397]; tRNA splicing, via endonucleolytic cleavage and ligation [GO:0006388]; tRNA-type intron splice site	centrosome [GO:0005813]; cytosol [GO:0005829]; nucleolus [GO:0005730]; nucleoplasm [GO:0005654];	lyase activity [GO:0016829]; nucleic acid binding [GO:0003676]; tRNA-intron endonuclease activity [GO:0000213]

			recognition and cleavage [GO:0000379]	tRNA-intron endonuclease complex [GO:0000214]	
Trypsin V-A (EC 3.4.21.4)	P32821		digestion [GO:0007586]; proteolysis [GO:0006508]	extracellular space [GO:0005615]	metal ion binding [GO:0046872]; serine-type endopeptidase activity [GO:0004252]
Tudor domain-containing protein 7	A0A8L2R2S9	Tdrd7	cell differentiation [GO:0030154]	cytoplasm [GO:0005737]	RNA binding [GO:0003723]
Type II keratin Kb15	A0A0G2JVA8	Krt90 Kb15	intermediate filament organization [GO:0045109]; keratinization [GO:0031424]	keratin filament [GO:0045095]	structural constituent of skin epidermis [GO:0030280]
Tyrosine-protein kinase (EC 2.7.10.2)	A0A8I5ZU24	Jak1	cell differentiation [GO:0030154]; cellular response to interleukin-3 [GO:0036016]; cellular response to interleukin-7 [GO:0098761]; cytokine-mediated signaling pathway [GO:0019221];	cytoplasm [GO:0005737]; cytoplasmic side of plasma membrane [GO:0009898]; cytoskeleton [GO:0005856]; cytosol [GO:0005829]; endomembrane system	ATP binding [GO:0005524]; CCR5 chemokine receptor binding [GO:0031730]; growth hormone receptor binding [GO:0005131]; non-membrane spanning protein tyrosine kinase activity [GO:0004715]; protein phosphatase binding [GO:0019903];

			enzyme-linked receptor protein signaling pathway [GO:0007167]; growth hormone receptor signaling pathway via JAK- STAT [GO:0060397]; interleukin-11- mediated signaling pathway [GO:0038154]; interleukin-15- mediated signaling pathway [GO:0035723]; interleukin-2- mediated signaling pathway [GO:0038110]; interleukin-4- mediated signaling pathway [GO:0035771]; interleukin-6-	[GO:0012505]; extrinsic component of cytoplasmic side of plasma membrane [GO:0031234]; nucleus [GO:0005634]	protein tyrosine kinase activity [GO:0004713]; ubiquitin protein ligase binding [GO:0031625]

			mediated signaling pathway [GO:0070102]; interleukin-9-mediated signaling pathway [GO:0038113]; intracellular signal transduction [GO:0035556]; phosphorylation [GO:0016310]; positive regulation of homotypic cell-cell adhesion [GO:0034112]; positive regulation of protein localization to nucleus [GO:1900182]; positive regulation of receptor signaling pathway via STAT [GO:1904894]; positive regulation of sprouting		

			angiogenesis [GO:1903672]; protein localization to cell-cell junction [GO:0150105]; receptor signaling pathway via JAK- STAT [GO:0007259]; response to antibiotic [GO:0046677]; type I interferon-mediated signaling pathway [GO:0060337]; type II interferon- mediated signaling pathway [GO:0060333]		
Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 1 (EC 3.4.19.12) (Deubiquitinating enzyme 1) (Ubiquitin thioesterase 1) (Ubiquitin-specific-processing protease 1) [Cleaved into: Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 1, N-terminal	Q569C3	Usp1	DNA repair [GO:0006281]; monoubiquitinated protein deubiquitination [GO:0035520]; positive regulation of receptor signaling	cytosol [GO:0005829]; nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]	cysteine-type deubiquitinase activity [GO:0004843]; cysteine- type endopeptidase activity [GO:0004197]; peptidase activity [GO:0008233]

fragment]			pathway via JAK-STAT [GO:0046427]; protein deubiquitination [GO:0016579]; proteolysis [GO:0006508]; regulation of DNA repair [GO:0006282]; response to UV [GO:0009411]; skeletal system development [GO:0001501]		
Ubiquitin-conjugating enzyme E2 S (EC 2.3.2.23) (E2 ubiquitin-conjugating enzyme S) (Ubiquitin carrier protein S) (Ubiquitin-protein ligase S)	B5DFI8	Ube2s	anaphase-promoting complex-dependent catabolic process [GO:0031145]; cell division [GO:0051301]; exit from mitosis [GO:0010458]; free ubiquitin chain polymerization	anaphase-promoting complex [GO:0005680]; nucleus [GO:0005634]	anaphase-promoting complex binding [GO:0010997]; ATP binding [GO:0005524]; ubiquitin conjugating enzyme activity [GO:0061631]; ubiquitin-protein transferase activity [GO:0004842]

			[GO:0010994]; positive regulation of ubiquitin protein ligase activity [GO:1904668]; protein K11-linked ubiquitination [GO:0070979]; protein K27-linked ubiquitination [GO:0044314]; protein K29-linked ubiquitination [GO:0035519]; protein K6-linked ubiquitination [GO:0085020]; protein K63-linked ubiquitination [GO:0070534]; protein polyubiquitination [GO:0000209]; ubiquitin-dependent protein catabolic process		

			[GO:0006511]		
ubiquitinyl hydrolase 1 (EC 3.4.19.12)	A0A0G2JVN4	Usp19	proteolysis [GO:0006508]		cysteine-type deubiquitinase activity [GO:0004843]; metal ion binding [GO:0046872]
Uncharacterized protein	A0A8I6A744	ENSRNOG00000067 285			
USP6 N-terminal like	A0A8I6A486	Usp6nl	Golgi organization [GO:0007030]; plasma membrane to endosome transport [GO:0048227]; regulation of Golgi organization [GO:1903358]; retrograde transport, plasma membrane to Golgi [GO:0035526]	cytoplasmic vesicle [GO:0031410]; plasma membrane [GO:0005886]	GTPase activator activity [GO:0005096]; small GTPase binding [GO:0031267]
UTP23, small subunit processome component (Utp23 protein)	B1WBU0	Utp23	endonucleolytic cleavage in 5'-ETS of tricistronic rRNA transcript (SSU- rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA) [GO:0000480]	nucleolus [GO:0005730]; small-subunit processome [GO:0032040]	mRNA 3'-UTR binding [GO:0003730]; mRNA 5'-UTR binding [GO:0048027]; small ribosomal subunit rRNA binding [GO:0070181]
Vacuolar protein sorting-	A0A8I6A724	Vps52	protein transport	Golgi apparatus	

associated protein 52 homolog			[GO:0015031]	[GO:0005794]	
Vimentin	G3V8C3	Vim	astrocyte development [GO:0014002]; Bergmann glial cell differentiation [GO:0060020]; cellular response to lipopolysaccharide [GO:0071222]; cellular response to muramyl dipeptide [GO:0071225]; cellular response to type II interferon [GO:0071346]; intermediate filament organization [GO:0045109]; lens fiber cell development [GO:0070307]; negative regulation of neuron projection development [GO:0010977];	cell leading edge [GO:0031252]; cytosol [GO:0005829]; intermediate filament [GO:0005882]; neuron projection [GO:0043005]; peroxisome [GO:0005777]; phagocytic vesicle [GO:0045335]; plasma membrane [GO:0005886]; polysome [GO:0005844]	double-stranded RNA binding [GO:0003725]; identical protein binding [GO:0042802]; keratin filament binding [GO:1990254]; protein domain specific binding [GO:0019904]; scaffold protein binding [GO:0097110]; structural constituent of cytoskeleton [GO:0005200]; structural constituent of eye lens [GO:0005212]

			neuron projection development [GO:0031175]; positive regulation of collagen biosynthetic process [GO:0032967]; positive regulation of translation [GO:0045727]; regulation of mRNA stability [GO:0043488]; SMAD protein signal transduction [GO:0060395]		
VRK serine/threonine kinase 3	A0A8I5ZK62	Vrk3	negative regulation of ERK1 and ERK2 cascade [GO:0070373]; signal transduction [GO:0007165]; skeletal muscle tissue development [GO:0007519]	nucleus [GO:0005634]	ATP binding [GO:0005524]; protein phosphatase binding [GO:0019903]; protein serine/threonine kinase activity [GO:0004674]
WD repeat domain	A0A140TAA5	Wdr45	autophagosome	phagophore	phosphatidylinositol-3-

phosphoinositide-interacting protein 4 (WD repeat-containing protein 45)			assembly [GO:0000045]; cellular response to starvation [GO:0009267]; positive regulation of autophagosome assembly [GO:2000786]	assembly site [GO:0000407]	phosphate binding [GO:0032266]; protein kinase binding [GO:0019901]
Wiskott-Aldrich syndrome	M0RBE8	Was	actin filament polymerization [GO:0030041]; actin filament-based movement [GO:0030048]; actin polymerization or depolymerization [GO:0008154]; Cdc42 protein signal transduction [GO:0032488]; cellular response to type II interferon [GO:0071346]; endosomal transport [GO:0016197];	actin filament [GO:0005884]; cell-cell junction [GO:0005911]; cytosol [GO:0005829]; nucleus [GO:0005634]; phagocytic vesicle [GO:0045335]; plasma membrane [GO:0005886]; site of double-strand break [GO:0035861]; vesicle membrane [GO:0012506]	actin binding [GO:0003779]; identical protein binding [GO:0042802]; phospholipase binding [GO:0043274]; protein kinase binding [GO:0019901]; SH3 domain binding [GO:0017124]; small GTPase binding [GO:0031267]

			immune response [GO:0006955]; negative regulation of cell motility [GO:2000146]; negative regulation of stress fiber assembly [GO:0051497]; positive regulation of double-strand break repair via homologous recombination [GO:1905168]; positive regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0045944]; regulation of actin polymerization or depolymerization [GO:0008064]; regulation of lamellipodium assembly		

			[GO:0010591]; regulation of stress fiber assembly [GO:0051492]; regulation of T cell antigen processing and presentation [GO:0002625]; T cell activation [GO:0042110]		
WW domain binding protein 1-like	A0A8I5Y6G2	Wbp11		membrane [GO:0016020]	
Zinc finger CCCH-type containing 18	A0A140TAG3	Zc3h18			metal ion binding [GO:0046872]
Zinc finger E-box-binding homeobox 1 (Transcription factor 8)	A0A8I6A3L9	Zeb1	negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]		DNA binding [GO:0003677]
Zinc finger protein 217	D4AB75	Zfp217	negative regulation of DNA-templated transcription [GO:0045892]; negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122];	histone deacetylase complex [GO:0000118]; mitochondrion [GO:0005739]; nuclear speck [GO:0016607]; nucleoplasm	DNA-binding transcription factor activity, RNA polymerase II-specific [GO:0000981]; DNA- binding transcription repressor activity, RNA polymerase II-specific

			regulation of DNA-templated transcription [GO:0006355]	[GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]	[GO:0001227]; RNA polymerase II cis-regulatory region sequence-specific DNA binding [GO:0000978]; transcription cis-regulatory region binding [GO:0000976]
Zinc finger protein 281	Q5XI48	Zfp281	embryonic body morphogenesis [GO:0010172]; negative regulation of DNA-templated transcription [GO:0045892]; negative regulation of gene expression [GO:0010629]; negative regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0000122]; positive regulation of DNA-templated transcription [GO:0045893];	nucleoplasm [GO:0005654]; nucleus [GO:0005634]	DNA-binding transcription factor activity [GO:0003700]; DNA-binding transcription repressor activity, RNA polymerase II-specific [GO:0001227]; RNA polymerase II cis-regulatory region sequence-specific DNA binding [GO:0000978]; sequence-specific DNA binding [GO:0043565]; sequence-specific double-stranded DNA binding [GO:1990837]; transcription cis-

			regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0006357]; stem cell differentiation [GO:0048863]		regulatory region binding [GO:0000976]
Zinc finger protein 362	A0A8I5ZWA1	Zfp362	regulation of transcription by RNA polymerase II [GO:0006357]		DNA-binding transcription factor activity [GO:0003700]; RNA polymerase II cis-regulatory region sequence-specific DNA binding [GO:0000978]
Zinc finger protein 654	A0A8I5ZUK3	Zfp654			
Zinc finger, SWIM-type containing 8	A0A8I5Y637	Zswim8	positive regulation of miRNA catabolic process [GO:2000627]; proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process [GO:0043161]; protein ubiquitination [GO:0016567];	Cul2-RING ubiquitin ligase complex [GO:0031462]; Cul3-RING ubiquitin ligase complex [GO:0031463]; cullin-RING ubiquitin ligase complex [GO:0031461]; cytosol [GO:0005829]	ubiquitin ligase-substrate adaptor activity [GO:1990756]; zinc ion binding [GO:0008270]

			target-directed miRNA degradation [GO:0140958]		
Zona pellucida sperm-binding protein 2 (Zona pellucida glycoprotein 2) (Zona pellucida protein A)	M0R4S4	Zp2	binding of sperm to zona pellucida [GO:0007339]; prevention of polyspermy [GO:0060468]	collagen-containing extracellular matrix [GO:0062023]; egg coat [GO:0035805]; endoplasmic reticulum [GO:0005783]; extracellular region [GO:0005576]; multivesicular body [GO:0005771]; plasma membrane [GO:0005886]	acrosin binding [GO:0032190]; identical protein binding [GO:0042802]; structural constituent of egg coat [GO:0035804]

1172

1173

Supplemental Table 4.

Proteins extracted from prostate tissue of rats identified in the control, diabetic and obese groups.

Protein Name	ID	Gene	Group		
			Control	Diabetic	Obese
14-3-3 protein epsilon/ Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, epsilon	A0A8I5ZSP3	Ywhae	X	-	X
14-3-3 protein zeta/delta/ Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, zeta	A0A0G2JV65	Ywhaz	X	-	X
3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) (EC 1.1.1.34)	A0A8I6A6Z9	Hmgcr	X	-	-
5-aminolevulinate synthase (EC 2.3.1.37) (5-aminolevulinic acid synthase) (Delta-ALA synthase) (Delta-aminolevulinate synthase)	A0A0G2JYY2	Alas1	-	X	-
60S Ribosomal protein L26	G3V6I9	Rpl26	-	-	X
Actin, aortic smooth muscle	A0A0G2K4M6	Acta2	X	X	X
Actin, beta	A0A0G2K3K2	Actb	X	X	X
Actin, gamma-enteric smooth muscle (EC 3.6.4.-) (Alpha-actin-3) (Gamma-2-actin) (Smooth muscle gamma-actin) [Cleaved into: Actin, gamma-enteric smooth muscle, intermediate form]	P63269	Actg2 Acta3 Actsg	-	X	-
Acyl-CoA dehydrogenase family, member 10	F1LN88	Aldh2 Acad10	-	X	-
Adenylate cyclase type 6 (EC 4.6.1.1)	A0A0G2K429	Adcy6	X	-	-
ADP-ribosylation factor 3 (Liver regeneration-related protein LRRG202)	P61206	Arf3 Ac1-253	X	-	-
ADP-ribosylation factor	A0A8I5ZJK0	Arf4	X	X	X
Albumin	A0A0G2JSH5; P02770	Alb	X	X	X
Alpha-(1,3)-fucosyltransferase (EC 2.4.1.-)	M0R8J2	Fut10 fut10	-	-	X
alpha-1,6-mannosyl-glycoprotein 6-beta-N-acetylglucosaminyltransferase (EC 2.4.1.155)	A0A8I5ZTQ1	Mgat5b	-	-	X
Serpin family A member 1	A0A0G2JSJ9	Serpina1	-	X	X
Actinin alpha 4	A0A0G2K5U9	Actn4	X	X	X
Alpha-galactosidase (EC 3.2.1.-)	A0A8I6B4W8	Naga	X	-	-
Amine oxidase (EC 1.4.3.-)	A0A8I6AT92	Maoa	-	X	-

Aminotransferase class I/classII domain-containing protein	A0A8I6GJD2	ENSRNOG00000064101	X	-	X
Amyloid-beta A4 precursor protein-binding family A member 2 (Adapter protein X11beta) (Neuron-specific X11L protein) (Neuronal Munc18-1-interacting protein 2) (Mint-2)	O35431	Apba2 Mint2	-	X	-
Annexin	A0A8I6A8I9; A0A8I5ZKF7	Anxa1	X	X	X
Annexin	A0A8I5ZPN9	Anxa2	X	X	X
Annexin	A0A8I5ZUK7	Anxa5	X	X	X
Annexin	A0A8I5ZJA4	Anxa6	X	-	X
Armadillo repeat containing 2	A0A8I6A0V3	Armcd2	-	-	X
ATP synthase subunit beta (EC 7.1.2.2)	G3V6D3	Atp5f1b Atp5b	X	X	X
ATP-citrate synthase (EC 2.3.3.8) (ATP-citrate (pro-S)-lyase) (Citrate cleavage enzyme)	A0A0G2K5E7	Acly	X	-	X
AT-rich interaction domain 2	D3ZJU0	Arid2	-	X	-
Beta-2-microglobulin	A0A8I6A949	B2m	X	-	-
Biglycan	A0A8I6A8T9	Bgn	-	X	-
Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 4	F1LTZ5	Enpp4	-	-	X
C1q and TNF related 4	B5DF52	C1qtnf4	-	-	X
Calcium and integrin-binding family member 2	Q568Z7	Cib2	-	X	-
Calcium regulated heat stable protein 1	A0A8I5ZMT7	Carhsp1	X	X	X
Calmodulin regulated spectrin-associated protein family, member 3	A0A0G2K5C0	Camsap3	-	-	X
Calreticulin (CALBP) (CRP55) (Calcium-binding protein 3) (CABP3) (Calregulin) (Endoplasmic reticulum resident protein 60) (ERp60) (HACBP)	P18418; A0A8L2Q1G7	Calr	X	X	X
Calreticulin	A0A8L2Q6S9	Calr	-	X	X
Carbonic anhydrase (EC 4.2.1.1)	A0A8I6AMP9	Car3	X	-	X
Carbonic anhydrase (EC 4.2.1.1)	B2GV72	Car2	X	X	X
Carbonyl reductase [NADPH] 3 (EC 1.1.1.184) (Monomeric carbonyl reductase 3) (Quinone reductase CBR3) (EC 1.6.5.10)	A0A8I5XWT0	Cbr3	X	X	X
CD55 molecule (Cromer blood group)	A0A8I6A4L9	Cd55	-	X	-
Cingulin	P23514	Cgn	X	-	X
Coatomer subunit beta (Beta-coat protein) (Beta-COP)	A0A8I5Y1T3	Copb1 Copb	-	X	-
Coiled-coil domain containing 152	M0RDR9	Ccdc152	-	X	X
Collagen type VI alpha 1 chain	A0A8I5ZTR6	Col6a1	X	X	-
Collagen type VI alpha 3 chain	A0A8I6GAZ6	Col6a3	-	X	-

Collagen type XXV alpha 1 chain	A0A8L2PYP2	Col25a1	-	X	-
C-reactive protein	A0A8L2Q875	Crp	-	X	-
creatine kinase (EC 2.7.3.2)	F1M8T4	Ckb	-	-	X
Crystallin beta-gamma domain containing 3	P22282; A0A0G2JSU6	Crybg3	X	X	X
Cystatin-related protein 1 (CRP-1) (Androgen-regulated 20 kDa protein) (Prostatic 22 kDa glycoprotein P22K16/P22K20)	P22283	Andpro Crp1	X	X	X
Cystatin-related protein 2 (Prostatic 22 kDa glycoprotein P22K15)	Z4YNX7	Crp2 P22k15	-	X	X
Cystatin-related protein 2	A0A8I5YCE4	P22k15	-	X	-
Cytoskeleton associated protein 5	P80254	Ckap5	-	X	-
D-dopachrome decarboxylase (EC 4.1.1.84) (D-dopachrome tautomerase)	A0A8I6AAW0	Ddt	X	X	X
Decorin	A0A0G2JV16	Dcn	-	-	X
Dedicator of cytokinesis 11	A0A8I5ZRT6	Dock11	X	-	-
Dedicator of cytokinesis 2	A0A8I6ANC1	Dock2	X	X	X
Desmin	D4A315	Des	X	-	X
ADF-H domain-containing protein	A0A0G2JXZ3	AC093995.1	-	-	X
DNA helicase (EC 3.6.4.12) (ATP-dependent helicase ATRX)	A0A8I5ZZ60	Atrx	-	-	X
DNA helicase (EC 3.6.4.12)	A0A8I5ZZV1	Chd3	-	X	-
DNA methyltransferase 3C	D3ZFP4	Dnmt3c	X	X	-
DNA replication licensing factor MCM3 (EC 3.6.4.12)	Q14U74	Mcm3	-	X	-
Dolichyl-phosphate-mannose--protein mannosyltransferase (EC 2.4.1.109)	A0A0G2JYL5	Pomt2	X	-	-
Dynein, axonemal, heavy chain 2	A0A8I6G4W4	Dnah2	X	X	-
Ring finger protein 34	A0A8I6AEM9	Rnf34	X	X	X
Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1	A0A8L2QDI1	Eef1a1	X	X	X
78 kDa glucose-regulated protein (Binding-immunoglobulin protein) (Heat shock protein 70 family protein 5) (Heat shock protein family A member 5) (Immunoglobulin heavy chain-binding protein)	A0A0G2K4I4	Hspa5	X	-	-
Endoplasmic	B2RYJ8	Hsp90b1	-	X	-
Epithelial splicing regulatory protein 2 (RNA-binding motif protein 35B) (RNA-binding protein 35B)	A0A8I6A3U9	Esrp2 Rbm35b	-	X	-
Epsin 3	A0A1W2Q678	Epn3	X	-	-
Family with sequence similarity 120C	A0A0G2JTA0	FAM120C	X	-	-
Fas associated factor family member 2	A0A8I5Y7N0	Faf2	-	X	X
Fatty acid binding protein 4	A0A8I5ZUC1	Fabp4	-	X	-
Ferritin	A0A096MJX4	Ftl1	-	-	X
Fibrous sheath-interacting protein 2	A0A8I6AIZ0	Fsip2	-	-	X

Fraser extracellular matrix complex subunit 1	A0A0G2JV14	Fras1	-	-	X
Fucose kinase	D4A8X5	Fcsk Fuk	-	X	-
G protein-coupled receptor 45	A0A1K0H3R5	Gpr45	X	X	X
Hemoglobin, beta adult major chain	P04905; A0A8I6AIM5; G3V983	Hbb-b1 Hbb Hbb-b2 Hbb-bs LOC100134871	X	X	X
Glutathione S-transferase Mu 1 (EC 2.5.1.18) (GST 3-3) (GSTM1-1) (Glutathione S-transferase Yb-1) (GST Yb1)	P08010; A0A8I6AJ43	Gstm1	X	X	X
Glutathione S-transferase Mu 2 (EC 2.5.1.18) (GST 4-4) (GSTM2-2) (Glutathione S-transferase Yb-2) (GST Yb2)	G3V8H3	Gstm2	X	X	-
Glutathione S-transferase mu 2	P08009	Gstm7 Gstm2	X	-	-
Glutathione S-transferase Mu 7 (EC 2.5.1.18) (Chain 4) (GST Yb3) (GST class-mu 3) (Glutathione S-transferase Yb-3)	P04906	Gstm7 Gstm3	-	X	X
Glutathione S-transferase P (EC 2.5.1.18) (Chain 7) (GST 7-7) (GST class-pi)	A0A0G2K6L4	Gstp1	X	-	-
glutathione transferase (EC 2.5.1.18)	G3V6Z7	Gstm6l Gstm2	X	X	-
Golgin subfamily A member 5 (Golgin-84)	D3ZQJ3	Golga5	X	-	-
GRB10 interacting GYF protein 1	A0A8I6A278	Gigyf1	X	X	X
Heat shock protein family A (Hsp70) member 8	A0A0G2K793	Hspa8	X	X	X
Heat shock protein HSP 90-beta	A0A8I5ZYH2; A0A8L2QLW7	Hsp90ab1	X	X	X
Hemoglobin alpha, adult chain 1	P01946	Hba-a1 Hba-a2 Hbq1b	X	X	X
Hemoglobin subunit alpha-1/2 (Alpha-1/2-globin) (Hemoglobin alpha-1/2 chain) [Cleaved into: Hemopressin]	A0A8I5ZXF1; A0A0G2JSW3; P02091	Hba1 Hba-a1	X	X	X
Hemoglobin, beta adult major chain	A0A0G2JTW9	Hbb Hbb-b1 Hbb-b2 Hbb-bs LOC100134871 LOC120093065	X	X	X
Hemoglobin, beta adult major chain	P20059	Hbb-b1 Hbb Hbb-b2 Hbb-bs LOC100134871 LOC103694855 LOC120093065 LOC689064	-	X	-
Hemopexin	A0A8I6A4I5	Hpx	-	X	-
Hippocampus abundant transcript-like 3	A0A0G2K082	Mfsd14a Hiatl3 Slc35a3	X	-	X
Histone deacetylase (EC 3.5.1.98)	A0A0A0MXW3	Hdac9	-	-	X
Histone H2A	A0A0G2JXI9	H2az1 H2afz	X	X	X
Histone H2B	P62804	ENSRNOG00000068034	X	X	X

Histone H4 [Cleaved into: Osteogenic growth peptide (OGP)]	A0A0G2JXD6; F1LSN6; A0A8I5ZVT5	H4c2 Hist1h4b Hist4; Hist1h4m; H4c16 H4f16 H4ft Hist4h4	X	-	-
Hydin, axonemal central pair apparatus protein	A0A8I5XVN6	Hydin	-	X	-
SPATA31 domain-containing protein	A0A0G2JUG1	LOC689526	X	X	X
IF rod domain-containing protein	A0A8I6A244	AABR07001416.1	X	-	-
IF rod domain-containing protein	P20759	ENSRNOG00000069468	X	-	-
Ig gamma-1 chain C region	P20760	Igg-2a	-	-	X
Ig gamma-2A chain C region	P20761	Igh-1a	-	X	-
Ig gamma-2B chain C region (Immunoglobulin heavy chain 1a)	A0A0H2UI36	AABR07060872.1	X	X	-
Ig-like domain-containing protein	A0A8I5Y765	ENSRNOG00000064670	-	X	-
Ig-like domain-containing protein	A0A8I5Y662	ENSRNOG00000063707	-	X	-
Ig-like domain-containing protein	A0A8I5ZTU9	ENSRNOG00000064589	-	X	-
Ig-like domain-containing protein	A0A8I6AP43	ENSRNOG00000064490	-	-	X
Immunoglobulin V-set domain-containing protein	F1LN61	Ighm Ighe	X	X	X
Immunoglobulin heavy constant epsilon	F1M9B2	Igfbp7	X	-	-
Insulin-like growth factor binding protein 7	A0A8I5ZQI3	Ints4	-	-	X
Integrator complex subunit 4	D4AAZ8	Irf2bp1	X	X	X
Interferon regulatory factor 2 binding protein 1	Q5XI55-2	Ngly1	X	-	-
Peptide-N(4)-(N-acetyl-beta-glucosaminyl)asparagine amidase (PNGase) (EC 3.5.1.52) (N-glycanase 1) (Peptide:N-glycanase)	P58775-2	Tpm2	-	X	-
Tropomyosin beta chain (Beta-tropomyosin) (Tropomyosin-2)	A0A8I5ZTD5	Itprid2	X	-	-
ITPR interacting domain containing 2	A0A0G2K6G1; A0A8I6ASZ7	Klk1	X	X	X
Kallikrein 1	G3V8G8	Klk1c8	X	X	X
Kallikrein 1-related peptidase C8	A0A0G2JT54	Ka11 Krt14 Krt15 Krt16 Krt19	X	X	X
Keratin 14	A0A0G2JXJ9	Krt14 Ka11 Krt15 Krt16 Krt19	X	-	X
Keratin 28	A0A8I6ACU5	Krt28	X	-	-
Keratin 10	A0A0G2K2V6	Krt10	-	-	X
Keratin, type I cytoskeletal 18 (Cytokeratin-18) (CK-18) (Keratin-18) (K18)	Q5BJY9	Krt18 Krt1-18	X	-	X
Keratin, type II cytoskeletal 1 (Cytokeratin-1) (Keratin-1) (Type-II keratin Kb1)	A0A0G2JST3	Krt1	X	-	-
Keratin 73	A0A0G2JXH6	Krt73	X	X	X
Keratin 8	A0A8I6G4D8	Krt8	X	X	X

Kininogen 2	A0A0G2JVQ5	Kng2 Kng2l1	-	X	-
KN motif and ankyrin repeat domains 1	A0A8I5ZQY2	Kank1	-	X	-
Lamin A/C	A0A0G2JTC5	Lmna	-	X	-
Lumican	A0A8I6AIN1; P51886; A0A8I6AIN1	Lum	X	X	X
Lysine-rich coiled-coil 1	A0A8I6A2K4	Krcc1	X	-	-
Malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37)	A0A8I6ABC9	Mdh2	X	-	X
Acyl-CoA synthetase family member 2	A0A8I6ANW0	Acsf2	-	-	X
Membrane-bound transcription factor peptidase, site 1	A0A8I5XW81	Mbtps1	-	-	X
Metalloproteinase inhibitor 1 (Tissue inhibitor of metalloproteinases 1) (TIMP-1)	P30120	Timp1 Timp-1	-	X	-
Microtubule-actin crosslinking factor 1	A0A0G2JWA8	Macf1	X	-	-
Midasin	A0A0G2K9L9	Mdn1	-	-	X
Moesin	A0A096MK30	Msn	X	X	X
Molybdenum cofactor sulfurase (MCS) (MOS) (MoCo sulfurase) (EC 2.8.1.9) (Molybdenum cofactor sulfurtransferase)	A0A1W2Q693	Mocos MOCOS	X	-	-
Monocyte differentiation antigen CD14 (Myeloid cell-specific leucine-rich glycoprotein) (CD antigen CD14)	Q63691	Cd14	X	X	-
Murinoglobulin 1	A0A0G2JUP5	Mug1	-	X	-
Muskelin	A0A0G2K9Q2	Mkln1	-	-	X
Myosin heavy chain 14	A0A0G2K3H1	Myh14	-	-	X
Myosin light chain 6	A0A0G2JWE1	LOC685883 Myl6	X	X	X
Myosin heavy chain 11	A0A0G2K6S9	Myh11	X	X	-
N(alpha)-acetyltransferase 15, NatA auxiliary subunit	A0A8I6A145	Naa15	X	-	-
Nectin cell adhesion molecule 2	A0A0G2KA71	Nectin2 Pvr12	-	X	-
Neprilysin	A0A0H2UHX5	Mme	X	X	X
Nestin	A0A8I6ABC1	Nes	-	-	X
Neurobeachin	A0A8I6AB61	Nbea	-	X	X
Neurochondrin (Neurite outgrowth-related protein from the rat brain) (Norbin)	O35095	Ncdn	-	X	-
Neuromedin-S	Q5H8A2	Nms	X	X	X
non-specific protein-tyrosine kinase (EC 2.7.10.2)	A0A8I5ZLS9	Ptk2b	X	-	-
non-specific serine/threonine protein kinase (EC 2.7.11.1)	D3Z837	Cdc42bpg	-	-	X
NPR2-like, GATOR1 complex subunit	D3ZPN1	Nprl2	X	-	-
NRDE-2, necessary for RNA	A0A8I6AG13	Nrde2	X	-	-

interference, domain containing					
Nucleobindin 2	A0A8I6GHJ0	Nucb2	X	-	X
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A (PPIase A) (EC 5.2.1.8) (Cyclophilin A) (Cyclosporin A-binding protein) (Rotamase A) (p1B15) (p31) [Cleaved into: Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A, N-terminally processed]	P10111; A0A0G2K1P0	Ppia	X	X	X
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (PPIase) (EC 5.2.1.8)	A0A8I6A629	LOC100911252	X	-	X
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (PPIase) (EC 5.2.1.8)	A0A8I6GG55	Ppib	-	-	X
Peroxiredoxin-1 (EC 1.11.1.24)	A0A0G2K3Z9	Prdx11	-	-	X
Peroxiredoxin 2	A0A0G2JSH9	Prdx2	X	-	X
Peroxiredoxin-5 (EC 1.11.1.24)	A0A0G2JSS8	Prdx5	X	X	X
Peroxisomal membrane protein PEX16	D3ZGV2	Pex16	-	-	X
Phosphatase and actin regulator	A0A8I5XW51	Phactr1	X	-	-
Phosphatidylethanolamine binding protein 1	A0A8I5ZLC1	Pebp1	X	X	X
Phosphodiesterase (EC 3.1.4.-)	A0A8I5ZM70	Pde1c	X	-	-
Phosphodiesterase (EC 3.1.4.-)	A0A8I5ZZJ4	Pde4a	X	-	-
phosphopyruvate hydratase (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate hydro-lyase)	A0A8I6AR18	Eno1	X	-	-
phosphopyruvate hydratase (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate hydro-lyase)	A0A8I5YC61	Eno1-ps20	X	-	-
Pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G1	D4AE81	Plekhg1	-	X	-
Poly [ADP-ribose] polymerase (PARP) (EC 2.4.2.-)	A0A096MK99	Parp4 Mphosph8	-	-	X
Polypeptide N-acetylglucosaminyltransferase (EC 2.4.1.-) (Protein-UDP acetylglucosaminyltransferase)	A0A8I5ZYW6	Galnt16	-	X	-
G protein-coupled receptor 158	A0A0A0MY13	Gpr158	-	-	X
Probable splicing factor YJU2B (Coiled-coil domain-containing protein 130)	Q32PZ9	Yju2b Ccdc130	X	X	-
Probasin	A0A8L2QLQ0	Pbsn	X	X	X
Pro-epidermal growth factor	A0A0G2KAF5	Egf LOC100910178	X	-	-
Profilin	A0A8I6AKB2	Pfn1	X	-	X
Prolargin (Proline-arginine-rich end leucine-rich repeat protein)	Q9EQP5	Prelp	-	X	-
Proline rich protein 2-like 1	A0A8I5YCB0	Prp211	X	X	X
Spermine binding protein	A0A0G2K176	Sbp Zg16b	X	X	X
Prostatic steroid-binding protein C1 (Prostatein peptide C1)	P02782	Psbpc1 Scgb1d2	X	X	X

Prostatic steroid-binding protein C2 (Prostatein peptide C2)	P02781	Psbpc2	X	X	X
Protein disulfide-isomerase A6 (EC 5.3.4.1)	A0A0G2JSZ5	Pdia6	X	X	X
Protein disulfide-isomerase (EC 5.3.4.1)	A0A8I6A1R9	P4hb	X	X	X
Protein disulfide-isomerase (EC 5.3.4.1)	A0A8I6GAH4; A0A0H2UHM5	Pdia3	X	X	X
Protein S100-A6 (Calcyclin) (Prolactin receptor-associated protein) (S100 calcium-binding protein A6)	P05964	S100a6 Cacy	X	X	X
Protein S100-A8 (Calgranulin-A) (Migration inhibitory factor-related protein 8) (MRP-8) (p8) (S100 calcium-binding protein A8)	P50115	S100a8 Mrp8	X	-	-
Unc-13 homolog A	A0A8I5ZWH4	Unc13a	-	-	X
protein-glutamine gamma-glutamyltransferase (EC 2.3.2.13)	A0A8I6A1G8	Tgm2	-	X	-
pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1)	A0A0G2JTL5	Pc	-	X	X
RAB GTPase activating protein 1	A0A8I5Y2G5	Rabgap1	-	X	-
RAB6B, member RAS oncogene family	A0A0G2JT78	Rab6b	-	-	X
RBR-type E3 ubiquitin transferase (EC 2.3.2.31)	A0A8I5ZSJ6	Arih1	-	-	X
Similar to Cystatin S precursor (LM protein)	G3V9M0	Cyss1 LOC296235	X	-	X
Seminal vesicle secretory protein 4	A0A0G2JSZ2	Svs4	-	X	-
Seminal vesicle secretory protein 6	D3ZJA4	Svs6	-	X	-
Zinc fingers and homeoboxes 1	G3V6S9	Zhx1	-	-	X
receptor protein-tyrosine kinase (EC 2.7.10.1)	A0A8I6A019	Epha5	X	-	-
Retinitis pigmentosa 1-like 1 protein-like	A0A8I6A5Y8	LOC102548506	-	X	-
RWD domain containing 4	A0A0G2K617	Rwdd4	-	-	X
S100 calcium binding protein A7 like 2	D3Z9U8	S100a7l2 RGD1562234	X	X	X
Secretoglobulin family 2A member 2 (C3.1) (Prostatein peptide C3) (Prostatic steroid-binding protein C3)	P02780	Scgb2a2 Psbpc3	X	X	X
Serine protease 1 (EC 3.4.21.4) (Anionic trypsin I) (Anionic trypsin-1) (Beta-trypsin) (Cationic trypsinogen) (Pretrypsinogen I) (Trypsin I) (Trypsin-1)	P00762	Prss1 Trp1 Try1 Tryp1	X	X	X
Serine protease inhibitor A3K (Serpine A3K) (CPI-21) (Contrapsin-like protease inhibitor 1) (GHR-P63) (Growth hormone-regulated proteinase inhibitor) (Kallikrein-	P05545	Serpina3k Spin2b	-	X	-

binding protein) (KBP) (SPI-2.3) (Serine protease inhibitor 2) (SPI-2) (Thyroid hormone-regulated protein)					
Serine protease inhibitor A3N	A0A0G2JXK5	Serpina3l LOC299282 Serpina3n	-	-	X
Serine/arginine repetitive matrix 2	A0A0G2K2M9	Srrm2	X	X	X
Serpin family B member 6A	A0A8I6A6H8	Serpinb6a	-	-	X
Signal recognition particle receptor subunit beta	Q7TMC7	Tf	X	X	-
Similar to Dermal papilla derived protein 7	A0A0G2JYF6	Tmem45a2 RGD1310935	X	X	-
Similar to OTTMUSP00000000636	A0A8I5ZKE5	RGD1564786	-	X	-
Similar to polyubiquitin	A0A8I6A1Y5	LOC679594	X	X	X
SLAIN motif family, member 2	A0A8I6AIE0	Slain2	-	-	X
Sodium channel and clathrin linker 1	A0A8I5ZLA1	Sc1t1	-	X	-
Solute carrier family 35, member F3	M0RA35	Slc35f3 LOC679321	-	-	X
Solute carrier organic anion transporter family member	A0A8I5ZV71	Slco5a1	-	X	-
Spectrin beta chain	A0A140UHX6	Sptb	-	-	X
Spermatogenesis associated 17	A0A8I6A7C6	Spata17	-	X	-
Sphingosine-1-phosphate phosphatase 2	A0A8I6AGX4	Sgpp2	-	-	X
STING ER exit protein	A0A0U1RS26	Steep1	-	-	X
Sulfhydryl oxidase 1 (rSOX) (rSOx) (EC 1.8.3.2) (FAD-dependent sulfhydryl oxidase-2) (SOx-2) (Quiescin Q6)	Q6IUU3	Qsox1 Qscn6 Sox2	X	-	-
TBC1 domain family, member 20	Q6AXR1	Tbc1d20	-	-	X
Thioredoxin (Trx)	P11232	Txn Txn1	X	-	X
threonine--tRNA ligase (EC 6.1.1.3) (Threonyl-tRNA synthetase)	A0A8I5ZU30	Tars2	-	X	-
Thyroid stimulating hormone receptor	A0A8I6GBW4	Tshr	-	X	-
Trafficking kinesin protein 2	A0A0G2K434	Trak2	-	X	-
Transgelin	A0A0G2JWK7	Tagln	X	X	X
Transitional endoplasmic reticulum ATPase (TER ATPase) (EC 3.6.4.6) (15S Mg(2+)-ATPase p97 subunit) (Valosin-containing protein) (VCP)	P46462	Vcp	X	-	X
Trinucleotide repeat containing adaptor 6C	A0A8I5Y248	Tnrc6c	-	-	X
tRNA-uridine aminocarboxypropyltransferase (EC 2.5.1.25)	A0A8I5ZZV5	Dtwd1	X	-	X
Tropomyosin 1	A0A8I6A156; A0A0G2JX64	Tpm1	X	X	X
Tubulin alpha chain	A0A8I5ZN97	Tuba8	X	-	X
Tubulin beta chain	A0A8I5Y8E3	Tubb4b	X	X	X
Ubiquitin B-like	A0A8I5ZTA8	LOC100363494	X	X	X

Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a (Ubiquitin carboxyl extension protein 80)	A0A8I6G8I7	Rps27a-ps2 Rps27a-ps3	X	-	-
Uncharacterized protein	F8WGA2	Scgb2a1	-	-	X
Tropomyosin	A0A8I5YC74	ENSRNOG00000066004	-	X	-
Uncharacterized protein	A0A8I6GKZ2	ENSRNOG00000070481	X	-	-
Leucine-rich repeat-containing protein 37 N-terminal domain-containing protein	A0A8I5ZLB2	ENSRNOG00000066876	X	-	-
Unk like zinc finger	A0A8I6ARA8	Unkl	-	-	X
Vimentin	G3V8C3	Vim	-	X	X
Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	A0A8I5ZUF9	ENSRNOG00000069999	X	-	X
Zinc finger, SWIM-type containing 8	A0A8I5Y637	Zswim8	-	-	X

1178 **Supplemental Table 5.**

1179 Proteins extracted from seminal vesicle fluid of rats identified in the control, diabetic and obese
 1180 groups.

Protein names	Accession	Gene Names	Group		
			Control	Diabetic	Obese
[histone H4]-N-methyl-L-lysine20 N-methyltransferase KMT5B (EC 2.1.1.361) (EC 2.1.1.362) ([histone H4]-lysine20 N-methyltransferase KMT5B)	A0A8I6G6N5	Kmt5b			x
26S proteasome regulatory subunit 7 (26S proteasome AAA-ATPase subunit RPT1) (Proteasome 26S subunit ATPase 2)	G3V7L6	Psmc2	x	x	x
3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase (HIB-CoA hydrolase) (HIBYL-CoA-H) (EC 3.1.2.4) (3-hydroxyisobutyryl-coenzyme A hydrolase)	A0A8I5ZL23	Hibch		x	
40S ribosomal protein S23	A0A8I5Y0L2	ENSRNOG00000066674	x		x
Actin, beta	A0A0G2K3K2	Actb			x
Acyl-CoA thioesterase 13	D3ZA93	Acot13	x		
ADAM metallopeptidase domain 18	F1LRY9	Adam18	x		
ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 19	D4A2E7	Adamts19	x	x	x
Adenylate cyclase type 1 (EC 4.6.1.1)	D4A3N4	Adcy1			x
AHNAK nucleoprotein	A0A8I6AAE1	ENSRNOG00000065195		x	
A-kinase anchoring protein 2	D4A4D8	Akap2		x	
Albumin	A0A0G2JSH5	Alb	x	x	x
Albumin	P02770	Alb			
Alcohol sulfotransferase-like (LRRGT00036)	Q6TXG3	LOC100360574		x	
Alpha-fetoprotein (Alpha-1-fetoprotein) (Alpha-fetoglobulin)	G3V6D0	Afp	x		
Amine oxidase (EC 1.4.3.-)	Q6IMK4	Svs1		x	x
Ankyrin repeat domain 33B	D3ZTU7	Ankrd33b			x
Annexin	A0A8I6A0U3	Anxa2			x
Apolipoprotein B	A0A8I6AJ20	Apob			x
Apoptosis inducing factor, mitochondria associated 3	A0A8I6A793	Aifm3		x	
Aprataxin and PNKP like factor	F6Q5G6	Aplf	x		
Armadillo repeat containing, X-linked 2	Q642B5	Armxc2			x
AT hook containing transcription factor 1	A0A0G2K160	Ahtcf1	x		
ATPase H ⁺ transporting V0 subunit a2	A0A8I6A269	Dnah10	x		
Atrophin 1	A0A0G2JZ81	Atm1	x		
Baculoviral IAP repeat-containing 6	A0A0G2JZ53	Birc6			x
Basigin (Ok blood group)	A0A8I5XWA5	Bsg		x	

BCL2-antagonist/killer 1	F7EQF3	Bak1			x
Beta-2-microglobulin	A0A8I6A949	B2m	x	x	x
BICD cargo adaptor 1	A0A8I5ZK19	Bicd1			x
Bifunctional phosphoribosylaminoimidazole carboxylase/phosphoribosylaminoimidazole succinocarboxamide synthetase	A0A8I6A960	Paics			x
BR serine/threonine kinase 2	A0A8I5ZLC7	Brsk2	x		
Bromodomain PHD finger transcription factor	A0A0G2K7N8	Bptf			x
BTB/POZ domain-containing protein 8 (AP2-interacting clathrin-endocytosis protein) (APache)	A0A452Q762	Btbd8	x		
Calcium-activated potassium channel subunit alpha-1 (BK channel) (BKCA alpha) (Calcium-activated potassium channel, subfamily M subunit alpha-1) (K(VCA)alpha) (KCa1.1) (Maxi K channel) (Slo-alpha) (Slo1) (Slowpoke homolog)	A0A0G2K8Q9	Kenma1	x		
Calponin	D3ZRX9	Cnn2			x
CAP-GLY domain containing linker protein 2	A0A0G2JZF2	Clip2	x		
Carbonic anhydrase (EC 4.2.1.1)	A0A8I6AMP9	Car2		x	
Cardiotrophin 2 (Neuropoietin)	Q6R2R3	Ctf2			x
Cardiotrophin-like cytokine factor 1	A0A8I6GGY9	Clefl		x	
Cathepsin D (EC 3.4.23.5)	A0A8I6AKF2	Ctsd	x		
CCR4-NOT transcription complex, subunit 3	D3ZUV9	Cnot3			x
CD244 molecule	F1LME3	Cd244l1	x		
Centrosomal protein 112	A0A8I6A7K4	Cep112		x	
Centrosomal protein 128	A0A8I6A8E4	Cep128			x
Centrosomal protein 192	A0A8I6A567	Cep192		x	
Centrosomal protein 89	A0A0G2JZG8	Cep89	x		
Cingulin	A0A8I6A4L9	Cgn		x	x
Circadian locomotor output cycles protein kaput (EC 2.3.1.48)	A0A0G2K8N0	Clock			x
Clusterin	A0A0G2K259	Clu	x		
Clusterin	A0A0G2JZ07	Clul1			x
Coagulation factor VIII	D3ZEB1	F8	x		
Coiled-coil domain containing 175	A0A8I5ZSI1	Ccdc175	x	x	x
Collagen type X alpha 1 chain	A0A0G2K7A5	Col10a1	x		
Collagen type XI alpha 2 chain	A0A8I6A830	Col11a2			x
Conserved oligomeric Golgi complex subunit 8 (COG complex subunit 8) (Component of oligomeric Golgi complex 8)	B5DF86	Cog8	x		
Cullin-5	A0A0H2UHG3	Cul5			x

Cyclin-dependent kinase 18	A0A0H2UHG4	Cdk18		x	
Cystatin C	A0A8I6AD91;	Cst3	x	x	x
Cystatin C	A0A8L2Q336	Cst3			
Cytoskeleton-associated protein 4	D3ZH41	Ckap4	x		
Cytotoxic T-lymphocyte protein 4 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4)	G3V7D2	Ctla4	x		
DDB1 and CUL4 associated factor 15	D3ZFW6	Dcaf15	x		x
Dedicator of cytokinesis 8	A0A8I6A829	Dock8		x	
Defensin beta 39	A0A8I5ZVY9	Defb39		x	
Delta(24)-sterol reductase (EC 1.3.1.72) (24-dehydrocholesterol reductase) (3-beta- hydroxysterol Delta-24-reductase)	Q5BQE6	Dhcr24		x	
DENN domain containing 3	A0A8I6G2K6	Dennd3		x	
DENN domain containing 5B	A0A8I5ZYN4	Dennd5b		x	
deoxyribonuclease II (EC 3.1.22.1)	A0A8I6GEI2	Dnase2b	x	x	x
deoxyribonuclease II (EC 3.1.22.1)	G3V825	Dnase2b		x	
DEP domain containing 1B	A0A8I6A996	Depdc1b	x		
Deubiquitinating protein VCIPI1 (EC 3.4.19.12) (Valosin-containing protein p97/p47 complex-interacting protein 1) (Valosin-containing protein p97/p47 complex-interacting protein p135) (VCP/p47 complex-interacting 135-kDa protein)	Q8CF97	Vcpip1		x	
Diacylglycerol kinase theta (DAG kinase theta) (DGKtheta) (EC 2.7.1.107) (EC 2.7.1.93)	D3ZEY4	Dgkq	x		x
DIS3-like exonuclease 2 (EC 3.1.13.-)	A0A0G2K6W6	Dis3l2			x
DISC1 scaffold protein	A0A8L2QR08	Disc1	x	x	x
Dmx-like 1	A0A8I6A9G2	Dmxl1		x	
DNA helicase (EC 3.6.4.12)	A0A8I6ARM3	Chd6	x		
DNA replication licensing factor MCM4 (EC 3.6.4.12)	A0A8I6AAZ2	Mcm4	x		
DNA-(apurinic or apyrimidinic site) endonuclease (EC 3.1.-.-)	A0A8L2Q612	Apex1			x
DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (EC 2.7.11.1)	A0A8I6ADM3	Prkdc	x		
DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC3 (RNA polymerase III subunit C3)	A0A8I5ZYW9	Polr3c	x		
DNA-directed RNA polymerase subunit beta (EC 2.7.7.6)	F1LM57	Polr1b		x	
DOP1 leucine zipper like protein B	A0A0G2JXD9	Dop1b	x	x	
E3 ubiquitin-protein ligase RNF10 (RING finger protein 10)	A0A0H2UI24	Rnf10	x		
Electron transfer flavoprotein subunit beta (Beta-ETF)	A0A8I6A6U0	Etfb			x
Elongation of very long chain fatty acids	A0A1B0GWP1	Elovl1		x	

protein 1 (EC 2.3.1.199) (3-keto acyl-CoA synthase ELOVL1) (ELOVL fatty acid elongase 1) (ELOVL FA elongase 1) (Very long chain 3-ketoacyl-CoA synthase 1) (Very long chain 3-oxoacyl-CoA synthase 1)					
EMAP like 6	A0A8I6A7A1	Eml6	x	x	
Epsilon 2 globin (Globin b3) (Hemoglobin, epsilon 2)	O88753	Hbe2			x
ESF1 homolog (ABT1-associated protein)	Q76MT4	Esf1 Abtap		x	x
Ets2 repressor factor	A0A8I6A9F0	Erf			x
Eukaryotic translation initiation factor 4E nuclear import factor 1	A0A8I5Y7I8	Eif4enif1	x		
Exportin 1	A0A8I6A738	Xpo1			x
F-actin monooxygenase (EC 1.14.13.225)	A0A8I5ZXM8	Mical2	x		
Fatty acid desaturase 2B	D3ZCK6	Fads2b			x
F-box and leucine-rich repeat protein 20	A0A0H2UI14	Fbxl20		x	
Fc fragment of IgG binding protein-like 1	F7EZQ4	Fcgbp1		x	
FERM and PDZ domain containing 4	A0A8I6ALA6	Frmpd4	x		
G patch domain containing 1	F1LU70	Gpatch1	x		
G protein-coupled receptor 155	A0A0G2JZP1	Gpr155		x	
G protein-coupled receptor 19	A0A8I6AW12	Gpr19			x
GABA type A receptor associated protein like 2	A0A8I6ASX5	Gabarapl2	x	x	
Gamma-tubulin complex component	A0A8I6A2I9	Tubgcp5		x	
GDP-mannose 4,6-dehydratase (EC 4.2.1.47) (GDP-D-mannose dehydratase)	Q3MHS7	Gmds	x		
GEN1 Holliday junction 5' flap endonuclease	D3ZVS5	Gen1	x		
Glial cells missing transcription factor 2	D3ZXW4	Gcm2			x
GTPase activating protein and VPS9 domains 1	A0A8I5Y674	Gapvd1			x
Guanine nucleotide-binding protein-like 3 (Nucleolar GTP-binding protein 3) (Nucleostemin)	Q811S9	Gnl3 Ns		x	
guanylate cyclase (EC 4.6.1.2)	A0A8I6AGA3	Gucy1a2		x	
Hemoglobin, beta adult major chain	A0A0G2JSW3	Hbb	x		x
Hemoglobin, beta adult s chain	A0A8I6ASA5	LOC100134871	x		
Heparan sulfate proteoglycan 2	A0A8I6A2S5	Hspg2			x
Histone acetyltransferase (EC 2.3.1.48)	A0A8I6AJG3	Kat5			x
histone acetyltransferase (EC 2.3.1.48)	A0A8I6GLZ3	Kat6b			x
IF rod domain-containing protein	A0A0G2JUG1	AABR07001416.1	x	x	x
Immunoglobulin (CD79A) binding protein 1b	D3ZMB4	Igbp1b	x		
Importin 9	D4A857	Ipo9			x
Integrin beta	A0A0G2K4V5	Itgb4	x		

Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3	A0A8I5ZPG2	Itih3	x		
Interferon-induced protein 44-like	A0A8I6AEX3	Ifi44l		x	
Interphotoreceptor matrix proteoglycan 1 (Sialoprotein associated with cones and rods)	A0A8I6ALU8	Impg1		x	
IZUMO family member 2	M0R6I5	Izumo2		x	x
Jupiter microtubule associated homolog 2	A0A8L2R4T4	Jpt2		x	x
Keratin 4	A0A0G2K6P7	Krt4	x	x	x
Keratin 73	A0A0G2JXH6	Krt73	x	x	
Keratin, type I cytoskeletal 10 (Cytokeratin-10) (Keratin-10)	A0A0G2K2V6	Krt10	x		x
Keratin, type II cytoskeletal 1 (Cytokeratin-1) (Keratin-1) (Type-II keratin Kb1)	A0A0G2JST3	Krt1	x	x	x
Kinesin-like protein	E9PSL8	Kif6	x		
Lamin B1	A0A8I6ACW5	Lmnb1			x
Large ribosomal subunit protein bL17m (39S ribosomal protein L17, mitochondrial)	A0A8I6A9S2	Mrpl17		x	
L-threonine dehydrogenase	D3ZN15	Tdh		x	
Lysozyme fl (Similar to RIKEN cDNA 9530003J23)	D4A0W2	RGD1306474	x	x	x
Male-specific lethal 3-like 2 (Drosophila)	Q6AYG1	Msl3l2	x		
Mediator complex subunit 12L	A0A0G2JV69	Med12l		x	
Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 4 (Mediator complex subunit 4)	A0A8I5Y634	Med4 MED4			x
MIA SH3 domain ER export factor 2	A0A8I5ZSK4	Mia2	x		
Mitochondrial carrier 1	A0A1W2Q6G8	Mtch1		x	
Mitochondrial translation release factor 1 like	A0A8L2QF03	Mtrf1l	x		
Mitogen-activated protein kinase 12	A0A8I6A4Z8	Mapk12		x	
Mtr4 exosome RNA helicase	A0A8I5Y1Z8	Mtrex		x	
Myosin XVIIIa	A0A8I6A163	Myo18a	x		
Myosin XVIIIa	A0A0G2JY08	Myo18a	x		
NEDD4 binding protein 2	A0A8I6A1M1	N4bp2			x
Neurexophilin and PC-esterase domain family member 4	A0A8I6AKA8	Nxpe4	x		
Neuromedin-S	Q5H8A2	Nms	x	x	
Nexilin (F actin binding protein)	A0A0G2K6I3	Nexn			x
NLR family member X1	A0A0G2K1Q1	NlrX1	x		x
non-specific serine/threonine protein kinase (EC 2.7.11.1)	A0A0G2K2Y2	Wnk3	x		
NPC intracellular cholesterol transporter 1	A0A8I6AL97	Npc1			x
Nuclear receptor binding SET domain protein 2	A0A8I5ZU53	Nsd2			x
Nucleoprotein TPR	A0A8I6ALQ6	Tpr	x	x	
Obscurin like cytoskeletal adaptor 1	A0A8I6AIN9	Obsl1			x

Olfactory receptor	D4A0G4	Or8b1c			x
Olfactory receptor	D4ACI2	Or52k2	x		
Olfactory receptor	A0A0G2K7R4	Or9g19	x		x
Orexin receptor type 2 (Ox-2-R) (Ox2-R) (Ox2R) (Hypocretin receptor type 2)	P56719	Hertr2	x		
Palmitoyltransferase (EC 2.3.1.225)	F7F2Z1	Zdhhc1			x
PAN2-PAN3 deadenylation complex subunit PAN3 (PAB1P-dependent poly(A)-specific ribonuclease (Poly(A)-nuclease deadenylation complex subunit 3) (PAN deadenylation complex subunit 3)	D4ADM2	Pan3 PAN3	x		
Papilin, proteoglycan-like sulfated glycoprotein	A0A8I5ZRY8	Papln		x	
PDZ and LIM domain protein 1 (C-terminal LIM domain protein 1) (Elfin) (LIM domain protein CLP-36)	P52944	Pdlim1			x
Peptidase S1 domain-containing protein	A0A8I6AQG9	ENSRNOG00000068886	x	x	
peptidylprolyl isomerase (EC 5.2.1.8)	A0A096MJW1	Fkbp10	x	x	
Period circadian protein homolog 1	A0A0H2UHZ7	Per1		x	
PHD finger protein 12	A0A1W2Q657	Phf12			x
Phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit type 3 (EC 2.7.1.137)	A0A8I5ZQC6	Pik3c3	x		
Phosphodiesterase (EC 3.1.4.-)	A0A8I6A6R9	Pde6c		x	
Phosphoglucomutase 1	A0A8I5ZRI9	Pgm1	x		
Piccolo (presynaptic cytomatrix protein)	F1M7V4	Pclo	x		
Poly [ADP-ribose] polymerase (PARP) (EC 2.4.2.-)	F1M9T2	Parp8	x		
Potassium channel tetramerization domain containing 2	F1M5Q3	Kctd2			x
Probable splicing factor YJU2B (Coiled-coil domain-containing protein 130)	Q32PZ9	Yju2b Ccdc130			x
Probasin	A0A8L2QLQ0	Pbsn	x	x	x
Proline-rich coiled-coil 2C	A0A8I5Y7A0	Prrc2c		x	x
Prostaglandin reductase 1 (EC 1.3.1.48) (EC 1.3.1.74) (15-oxoprostaglandin 13-reductase) (Dithiolethione-inducible gene 1 protein) (Leukotriene B4 12-hydroxydehydrogenase) (NAD(P)H-dependent alkenal/one oxidoreductase)	A0A8L2QAI5	Ptgr1		x	
Protein MTO1 homolog, mitochondrial	F1LYH3	Mto1		x	x
Protein phosphatase 2 scaffold subunit A beta	A0A8I5Y6R7	Ppp2r1b			x
protein-serine/threonine phosphatase (EC 3.1.3.16)	A0A8I6GLT1	Ctdnep1	x		
protein-serine/threonine phosphatase (EC 3.1.3.16)	A0A8I6A2G7	Ssh1		x	
protein-tyrosine-phosphatase (EC 3.1.3.48)	A0A0G2K2W0	Ptprb	x	x	x

proton-translocating NAD(P)(+) transhydrogenase (EC 7.1.1.1)	A0A8I6AQG5	Nnt		x	
Purinergic receptor P2Y14	Q5XIX4	P2ry14		x	
Putative heme oxygenase 3 (HO-3) (EC 1.14.14.18)	O70453	Hmox3			x
RAD51 paralog B	A0A0G2JTF1	Rad51b		x	
Ras-related GTP-binding protein	A0A8I5ZR61	RragB		x	
Ras-related protein Rab-4	A0A8I5ZK92	Rab4a			x
Retrotransposon Gag like 9	M0R6H3	Rtl9			x
Ring finger protein 180	A0A8I5ZZU5	Rnf180		x	
Ring finger protein, transmembrane 2	D3ZTN5	Rnft2	x		
RNA helicase (EC 3.6.4.13)	A0A8I5ZKB3	Ddx39a			x
Scavenger receptor class F, member 2	A0A8I6AH58	Scarf2		x	
Scinderin (Adseverin)	E9PU64	Scin	x		
Semenogelin 1	Q6P6X2	Semg1	x	x	x
Seminal vesicle secretory protein 3B	D3ZAT0	Svs3b	x	x	x
Seminal vesicle secretory protein 4	A0A0G2JSZ2	Svs4	x	x	x
Seminal vesicle secretory protein 5	A0A0G2JTC7	Svs5	x	x	x
Seminal vesicle secretory protein 6	D3ZJA4	Svs6	x	x	x
Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A, member 3C	A0A0G2JSK1	Serpina3c			x
Serine and arginine repetitive matrix 1	A0A0G2K4F6	Srrm1			x
Serine protease 1 (EC 3.4.21.4) (Anionic trypsin I) (Anionic trypsin-1) (Beta- trypsin) (Cationic trypsinogen) (Pretrypsinogen I) (Trypsin I) (Trypsin- 1)	P00762	Prss1	x	x	x
Serine protease inhibitor Kazal-type 1- like (Calcium transport inhibitor) (Caltrin) (Pancreatic secretory trypsin inhibitor II) (PSTI-II)	P09656	Spink11		x	x
Serine/arginine repetitive matrix 2	A0A0G2K2M9	Srrm2	x	x	x
Serpin family A member 5	F7EMJ6	Serpina5	x	x	x
Serpin family E member 2	A0A0G2K2I7	Serpine2		x	
Short chain dehydrogenase/reductase family 42E, member 2	A0A8I6A8Y0	Sdr42e2		x	
Signal recognition particle 54 kDa protein (EC 3.6.5.-)	A0A8I6A4J0	Srp54a		x	
Similar to Na ⁺ dependent glucose transporter 1	M0RAV5	RGD1561777	x		x
Similar to Protein C7orf26 homolog	F1M0G5	Ints15	x		
Similar to RIKEN cDNA 4921536K21	D3ZFB8	C14h5orf52			x
Small nuclear ribonucleoprotein Sm D3 (Sm-D3) (snRNP core protein D3)	A0A8I6A3D9	LOC103694291	x		
Small ribosomal subunit protein uS7m (28S ribosomal protein S7, mitochondrial)	A0A8I6A178	Mrps7			x
Small RNA binding exonuclease	A0A8I5ZZL0	Ssb			x

protection factor La					
SOGA family member 3	A0A8I6A680	Soga3		x	
Solute carrier family 12, member 6	A0A0G2K6T0	Slc12a6		x	
Solute carrier family 25 member 23	A0A0G2JVD2	Slc25a23			x
Sulfhydryl oxidase 1 (rQSOX) (rSOx) (EC 1.8.3.2) (FAD-dependent sulfhydryl oxidase-2) (SOx-2) (Quiescin Q6)	Q6IUU3-2	Qsox1	x	x	
Sulfhydryl oxidase 1 (rQSOX) (rSOx) (EC 1.8.3.2) (FAD-dependent sulfhydryl oxidase-2) (SOx-2) (Quiescin Q6)	Q6IUU3	Qsox1	x	x	x
Syntrophin	A0A8I5ZUF6	Snph	x	x	x
Tax1 binding protein 1	A0A8I6A5K4	Tax1bp1			x
TBC1 domain family member 31	A0A0G2JVE4	Tbc1d31		x	
T-complex protein 1 subunit gamma	A0A8I5Y7A1	Cct3	x		
Terminal nucleotidyltransferase 5C (EC 2.7.7.19)	A0A8L2UJK0	Tent5c	x		
Tetratricopeptide repeat domain 17	A0A8I5ZKB8	Ttc17		x	
TLC domain containing 3A	A0A8I5ZT44	Tlcd3a			x
Trace amine-associated receptor 7a (TaR-7a) (Trace amine receptor 7a) (Trace amine receptor 8) (TaR-8)	Q923Y2	Taar7a	x		
Transcription elongation factor A protein-like 1	A0A8I5Y049	Tceal1			x
Transmembrane protein 44	A0A8I5YCH0	Tmem44	x		
Trinucleotide repeat containing adaptor 6C	A0A8I5Y248	Tnrc6c	x	x	
tRNA-splicing endonuclease subunit Sen2 (EC 4.6.1.16) (tRNA-intron endonuclease Sen2)	Q5M954	Tsen2			x
Trypsin V-A (EC 3.4.21.4)	P32821		x		
Tudor domain-containing protein 7	A0A8L2R2S9	Tdrd7	x		
Type II keratin Kb15	A0A0G2JVA8	Krt90 Kb15	x		x
Tyrosine-protein kinase (EC 2.7.10.2)	A0A8I5ZU24	Jak1		x	x
Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 1 (EC 3.4.19.12) (Deubiquitinating enzyme 1) (Ubiquitin thioesterase 1) (Ubiquitin-specific-processing protease 1) [Cleaved into: Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 1, N-terminal fragment]	Q569C3	Usp1	x		
Ubiquitin-conjugating enzyme E2 S (EC 2.3.2.23) (E2 ubiquitin-conjugating enzyme S) (Ubiquitin carrier protein S) (Ubiquitin-protein ligase S)	B5DFI8	Ube2s	x		
ubiquitinyl hydrolase 1 (EC 3.4.19.12)	A0A0G2JVN4	Usp19	x		
Uncharacterized protein	A0A8I6A744	ENSRNOG00000067285	x		
USP6 N-terminal like	A0A8I6A486	Usp6nl		x	
UTP23, small subunit processome component (Utp23 protein)	B1WBU0	Utp23			x

Vacuolar protein sorting-associated protein 52 homolog	A0A8I6A724	Vps52	x	x	x
Vimentin	G3V8C3	Vim			x
VRK serine/threonine kinase 3	A0A8I5ZK62	Vrk3	x		
WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 4 (WD repeat-containing protein 45)	A0A140TAA5	Wdr45		x	
Wiskott-Aldrich syndrome	M0RBE8	Was	x	x	
WW domain binding protein 1-like	A0A8I5Y6G2	Wbp11		x	x
Zinc finger CCCH-type containing 18	A0A140TAG3	Zc3h18	x	x	
Zinc finger E-box-binding homeobox 1 (Transcription factor 8)	A0A8I6A3L9	Zeb1			x
Zinc finger protein 217	D4AB75	Zfp217			x
Zinc finger protein 281	Q5XI48	Zfp281	x		
Zinc finger protein 362	A0A8I5ZWA1	Zfp362	x		
Zinc finger protein 654	A0A8I5ZUK3	Zfp654			x
Zinc finger, SWIM-type containing 8	A0A8I5Y637	Zswim8		x	x
Zona pellucida sperm-binding protein 2 (Zona pellucida glycoprotein 2) (Zona pellucida protein A)	M0R4S4	Zp2	x	x	

CAPÍTULO 3

ARTIGO CIENTÍFICO

**Percepções do Metabolismo Intracelular Testicular no Diabetes e na
Obesidade: Assinaturas Proteômicas****Insight into testicular cell metabolism in the diabetes and obesity: proteomics
signatures¹**

Marcos G. Carvalho[†], Gabriela C. Sousa[†], Yasmin E.H. Martins[†], Saurabh Tiwari[#],
Jacob Thundathil[#], Fabiana F. Souza^{*†}

[†]Department of Veterinary Surgery and Animal Reproduction, School of Veterinary
Medicine and Animal Science, São Paulo State University, Unesp, Botucatu, São Paulo,
Brazil

[#]Department of Production Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of
Calgary, Calgary, Alberta, Canada

Correspondence:

*Department of Veterinary Surgery and Animal Reproduction, School of Veterinary
Medicine and Animal Science, São Paulo State University, Unesp, Botucatu, São Paulo,
Brazil. E-mail: fabiana.f.souza@unesp.br; Phone: +55 14 3880-2237 (Souza, FF)

¹ Artigo elaborado para submissão na *Journal of Proteome Research*

30

31

32

33 RESUMO

34 A obesidade e o diabetes apresentam alta prevalência, afetando jovens em idade
35 reprodutiva. Esses distúrbios podem causar danos irreversíveis na função testicular. O
36 objetivo deste estudo visa utilizar a proteômica em uma abordagem translacional para
37 investigar os efeitos da obesidade e do diabetes no testículo. Para isso, foram utilizados
38 30 ratos Wistar com cerca de 50 dias de idade, divididos em três grupos, controle,
39 diabéticos e obesos. As doenças induzidas foram validadas e aos 285 dias, os ratos foram
40 eutanasiados e os testículos foram colhidos para espectrometria de massas. A digestão
41 triptica em gel das amostras foi conduzida e a proteômica foi realizada com abordagem
42 *shotgun*. Os dados foram submetidos a análise multivariada (principal componente
43 analysis) e a univariada (ANOVA e teste de Fisher LSD). Curvas ROC foram construídas
44 para os grupos diabéticos e obesos *versus* controle, indicando 80 proteínas ($AUC > 0,80$
45 e $P < 0,05$). O Kegg Pathway e o String foram utilizados para análise de vias e interação
46 proteína-proteína, respectivamente. Na PCA houve uma separação do grupo controle,
47 diabético e obeso, evidenciada pelo *heatmap*. Foram identificadas proteínas
48 diferentemente abundantes, 17 localizadas no citoplasma, 3 no acrossomo da célula
49 espermática, 8 na mitocôndria e 17 no núcleo. A maioria dessas proteínas são expressas
50 em testículos humanos. Durante a análise de interações proteína-proteína, foram
51 detectadas as vias de Wnt e spliceossomo. Além disso, ocorreram alterações nas
52 atividades enzimáticas das vias glicólise/gliconeogênese. Este estudo oferece *insights* de
53 possíveis biomarcadores de células testiculares associadas ao diabetes e a obesidade. Os
54 impactos foram mais acentuados nos diabéticos, enquanto nos obesos foram observados
55 mecanismos compensatórios.

56

57 **Palavras chaves:** biomarcadores, vias metabólicas, disfunção testicular, abordagem
58 translacional.

59

60 INTRODUÇÃO

61 A obesidade e o diabetes são crescentes problemas de saúde pública, apresentando
62 elevada incidência e abrangência mundial, acometendo jovens em idade reprodutiva ¹. A
63 taxa global da prevalência da obesidade e diabetes em adultos (> 18 anos) é de 19,8% e
64 de 8,5% ²⁻⁵. Segundo a Organização Mundial da Saúde ⁶ estima-se que 17,5% (1 a cada
65 6 indivíduos) das pessoas adultas ao redor do mundo apresentam infertilidade, sendo a
66 síndrome metabólica, um dos fatores ^{7,8}. Aproximadamente em 55% dos casos, a
67 infertilidade é causada por fatores masculinos ⁹.

68 A obesidade e o diabetes têm sido associados a uma série de efeitos adversos no
69 sistema reprodutivo masculino, causando danos nas funções testiculares devido a
70 alterações na insulina e comprometimento da glicose ^{10,11}. Essas alterações desencadeiam
71 inflamação crônica^{12,13}, implicações no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal ¹⁴, com
72 consequência na produção de hormônios sexuais e redução da testosterona ¹⁵, que são
73 associados ao hipogonadismo e alterações morfológicas ^{16,17}. Além disso, o aumento do
74 estresse oxidativo, causado pelo aumento da produção de radicais livres e pela diminuição
75 dos antioxidantes, danificam o DNA das células testiculares ^{18,19}. Esses distúrbios podem
76 causar danos irreversíveis na espermatogênese e função do espermatozoide, resultando
77 em subfertilidade ou infertilidade masculina ²⁰⁻²³.

78 Este estudo representa uma continuação da pesquisa conduzida por Carvalho et
79 al. ²⁴, com o objetivo de empregar a proteômica em uma abordagem translacional para
80 investigar os efeitos da obesidade e do diabetes no testículo. Pretende-se trazer novos
81 conhecimentos que possam fornecer *insights* valiosos para o desenvolvimento de futuras
82 estratégias terapêuticas visando tratar a subfertilidade ou infertilidade associada a essas
83 condições metabólicas.

84 **METODOLOGIA**

85 **SEÇÃO EXPERIMENTAL**

86 **Reagentes**

87 Todos os reagentes usados nesse estudo, foram do mais alto grau de pureza e obtidos das
88 empresas Merck KGaA (Darmstadt, GER), Bio-rad (Hercules, California, USA),
89 Thermo-Fisher Scientific (Waltham, MA, USA), Sigma-Aldrich (Barueri, Sao Paulo,
90 BR), caso contrário serão citados. Para espectrometria de massas os reagentes foram de
91 grau de pureza LC-MS.

92

93 **Preceitos éticos**

94 O estudo foi conduzido de acordo com os preceitos éticos preconizados pelo Conselho
95 Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pelo Comitê de
96 Ética no Uso de Animais (n 0212/2022).

97

98 **Design experimental**

99 Foram utilizados 30 ratos *Rattus norvegicus* (Wistar) com ~50 dias de idade, separados
100 em 3 grupos: controle (n=5), diabéticos (n=5) e (obesos (n=5). Os grupos, controle e
101 diabético, receberam ração comercial controlada e água *ad libitum*, enquanto o grupo
102 obeso recebeu dieta de cafeteria e água *ad libitum* com 5% de sacarose, para indução da
103 obesidade, por 38 semanas. O diabetes, foi induzido com aplicação de 35 mg/kg de
104 estreptozotocina (dose única) e foram considerados diabéticos animais com perda de peso
105 corporal e níveis de glicemia maiores ou iguais a 200 mg/dL. Ambas as doenças foram
106 validadas. Aos 285 dias os ratos foram eutanasiados e o testículo foi colhido.

107

108 **Proteômica**

109 Os testículos foram dissecados e pesados, e para cada 0,2 g de tecido foram adicionados
110 1 mL de solução tampão RIPA modificado²⁵, contendo inibidores de protease (150 mmol
111 NaCl, 1% Triton X- 100, 1% deoxicolato de sódio, 0,1% dodecil sulfato de sódio, 0,8
112 mmol EDTA, 1,0 µg/mL aprotinina, 1,0 µg/mL leupeptina e 35,0 µg/mL PMSF em 50
113 mmol Tris-HCl pH 7,2). As amostras foram sonicadas em banho de gelo^{26,27} e o
114 sobrenadante foi retirado após centrifugação a 10.000 x g por 30 minutos e armazenado
115 a -80 °C. As amostras foram liofilizadas (Liofilizador L-108, Liobras, Brasil).

116 Para eluição das amostras liofilizadas, foram usados 500 µL de PBS pH 7,4 e 300
117 µL de SDS 20%, as amostras foram rapidamente sonicadas (aproximadamente 20

segundos) (Misonix XL-2000 Series Ultrasonic Liquid Processors, Hayward, Califórnia, Estados Unidos) em banho de gelo. Em seguida foram lavadas 5 vezes, 40 minutos, 4,000 x g, com 2 mL do PBS pH 7,4 e concentrados no volume final de aproximadamente 200 µL, utilizando tubos Amicon® Ultra-15 (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha). As amostras foram homogeneizadas e armazenadas a -20 °C.

Uma alíquota de proteína foi preparada para eletroforese em gel de poliacrilamida 10%. Após a entrada da amostra no gel de separação, a corrida foi interrompida e o gel foi corado com Coomassie coloidal ^{28,29}. Os fragmentos corados foram excisados e a digestão trípica dos peptídeos foi conduzida.

Digestão trípica

As amostras testiculares foram digeridas em gel, segundo Shevchenko et al. ³⁰. A descoloração foi realizada com 50% (v/v) de acetonitrila e 25 mM de bicarbonato de amônio (NH₄HCO₃) e os fragmentos foram desidratados com 100% de acetonitrila. A redução das pontes de dissulfeto foi realizada com 20mM de ditioneitol (DTT) e a alquilação com 55 mM de iodoacetamida. As amostras foram digeridas com tripsina (20 ng/µL) em uma proporção de 1:50 (tripsina/substrato), *overnight*. A ação da tripsina foi interrompida com solução bloqueadora 5% (v:v) de ácido fórmico 96% em 50% (v:v) de acetonitrila. A extração dos peptídeos foi realizada com soluções de eluição I 1% (v:v) ácido fórmico (96%) em 60% (v:v) metanol, eluição II 1% (v:v) ácido fórmico em 50% (v:v) de acetonitrila e Eluição III acetonitrila 100%. As amostras foram concentradas (SPD1010 Integrated SpeedVac Systems, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) e armazenadas a -80 °C. Para dessalinização as amostras foram ressuspendida em 10 µL TFA 0.1% (v:v) com auxílio do ZipTip. As amostras foram concentradas (SPD1010 Integrated SpeedVac Systems, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) e armazenadas a -80 °C, até a análise por espectrometria de massa.

LC-MS/MS Análise

A análise dos peptídeos foi conduzida em um espectrômetro de massas Orbitrap Fusion Lumos Tribrid (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), operado com um software Xcalibur v4.4.16.14 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), acoplado a um sistema de nanocromatografia líquida (Easy-nLC 1200 system, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). As amostras foram aplicadas numa coluna C18 75 µm x 2 cm (Acclaim PepMap 100, P/N 164946, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA,

USA), em um fluxo de 2 μ L/minutos, usando o solvente A (0,1% de ácido fórmico em água ultrapura). Os peptídeos foram eluídos em 120 minutos (5% para 28% em 105 min seguido por um aumento para 40% em 15 minutos), usando um gradiente de 5 a 40% do solvente B (0,1% de ácido fórmico em 80% de acetonitrila), em um fluxo de 0,3 μ L/minutos e separado em uma coluna analítica C18 75 μ m x 50 cm (PepMap RSLC C18, P/N ES803, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Então os peptídeos foram submetidos a ionização *electrospray* usando uma voltagem 2,1 kV em um tubo de transferências de íons a 300° C no modo de operação positivo. Os íons precursores (MS) foram detectados numa resolução de 120.000 FWHM, em uma m/z entre 375-1.575 e cargas de +2 - +7. O controle de ganho automático do equipamento e o tempo de injeção máxima foram ajustados para 4e5 e 50 milissegundos, respectivamente. O equipamento foi operado usando *top speed mode* com tempos de ciclos de 3 segundos para a seleção dos precursores. Os íons precursores mais intensos, que apresentaram um perfil peptídico isotópico e intensidade de no mínimo 5.000 foram isolados usando um quadrupolo e fragmentado com HCD (30% de energia de colisão), em uma rota de íons multipolo. Os íons fragmentados (MS2) foram analisados no *ion trap*, em uma taxa de escaneamento rápido. Neste passo o controle de ganho automático e o tempo máximo de injeção foram ajustados para 1e4 e 35 milissegundos, respectivamente. Os íons foram mantidos em uma lista de exclusão por 45 segundos para evitar aquisição do mesmo íon precursor com m/z similar ($\pm$ 10 ppm).

O Xcalibur v4.4.16.14 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) foi usado para aquisição e processamento dos dados. Os dados brutos (.raw) foram convertidos para o formato genérico do Mascot (.mgf) usando *RawConverter* v1.1.0.18 no modo *data-dependent acquisition* (DDA) e carga +2 a +7 para a conversão dos precursores monoisotópicos (<http://fields.scripps.edu/rawconv/>, He et al., 2015). O arquivo convertido para .mgf foi usado para a procura dos íons e identificação das proteínas no Mascot Distiller v7.2 (Matrix Science Inc., Boston, MA, USA). Os parâmetros de procura para os dados MS incluíram tripsina como enzima, número máximo de clivagem perdida de 1, carga do peptídeo $\geq$ 2, carbamidometilação da cisteína como modificação fixa, oxidação da metionina como modificação variável e uma tolerância de erro da massa de 10 ppm. Para os íons fragmentados uma tolerância de erro de massa de 0,6 Da foi usada. Apenas peptídeos identificados com score de confiança maior que 95% foram mantidos para análise. A quantificação relativa de cada proteína na mistura foi determinada utilizando a contagem espectral de massas usando o software Mascot Distiller v7.2

186 (Matrix Science Inc., Boston, MA, USA) e o banco de dados UniProtKB
187 (<http://www.uniprot.org/>), na taxonomia *Rattus norvegicus* (UP000002494). Os
188 resultados quantitativos de cada proteína foram descritos como *exponentially modified*
189 *protein abundance index* (emPAI).

190 Após a identificação das proteínas, os dados foram inseridos no UniProtKB
191 (www.uniprot.org.br) e o ShinyGO v 0.80. (<http://bioinformatics.sdstate.edu/go/>) para
192 obter as anotações da ontologia gênica (GO), usando as categorias função molecular,
193 processo biológico e componente celular. Para análise de vias foi utilizado o Kegg
194 Pathway (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) e para interação proteínas-
195 proteínas, o String (<https://string-db.org/>).

196

197 **Análise estatística**

198 Os valores de emPAI obtidos da espectrometria de massas foram normalizados, e os dados
199 foram consideradas para a análise estatística, das proteínas que estavam presentes em pelo
200 menos 60% das amostras de cada grupo. Para minimizar os efeitos dos *outliers*, o valor
201 do emPAI de cada amostra foi dividido pela somatória do emPAI de todas as amostras
202 nos grupos. O valor resultante foi utilizado para análise estatística.

203 Os dados foram submetidos a análise de agrupamento não-hierárquica usando o
204 software MetaboAnalyst 6.0 ³², para confirmar as divisões dos grupos baseado na
205 abundância de proteínas. A análise multivariada (*principal component analysis* - PCA)
206 foi utilizada para descrever a variação das amostras na matriz de pontuação. O *heatmap*
207 foi construído para a comparação visual das proteínas nos grupos. A análise univariada
208 (ANOVA) foi usada para determinar a diferença entre os grupos, e o teste de Fisher LSD
209 para as comparações múltiplas. Os valores foram considerados significativos quando
210 *false discovery rate* (FDR) foi < 0,05. A curva ROC foi construída para grupos controle,
211 diabéticos e obesos, foram considerados valores significativos para AUC > 0,80 e P <
212 0,05.

213

214 **RESULTADOS**

215 **Proteômica**

216 Na PCA observou-se um distanciamento do grupo diabético, obeso e controle, de acordo
217 com as proteínas testiculares, embora a soma dos componentes principais (eixos X e Y)
218 1 e 2 não foi superior a 50% (**Figura 1**). É possível confirmar no dendrograma a divisão
219 dos três grupos.

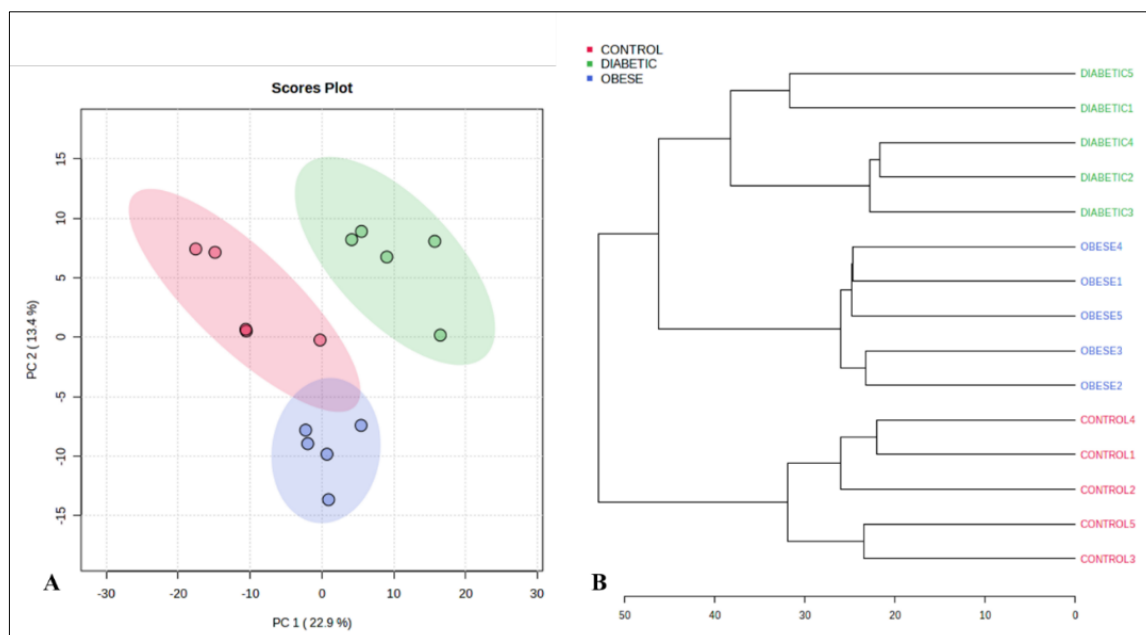


Figura 1. Análise de agrupamento. (A) análise dos componentes principais (PC1 + PC2 = 36,3). (B) Dendrograma dos emPAIs de proteínas dos grupos controle, diabético e obeso.

Na espectrometria de massa, 3.800 proteínas foram identificadas no testículo (**Figura 2**). O UniProtKB (<http://www.uniprot.org/>) descreve os resultados obtidos para cada grupo, incluindo a função molecular, processo biológico e componente celular de cada proteína.

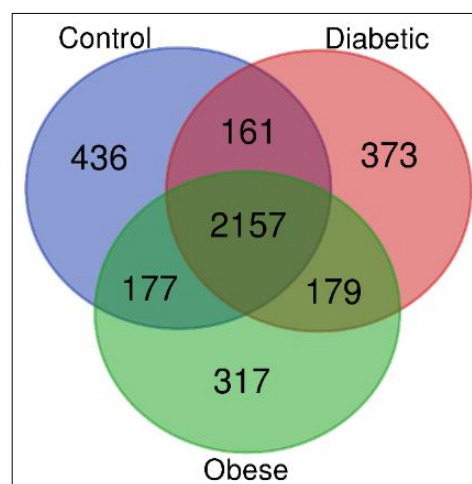


Figura 2. Diagrama de *Venn* das proteínas encontradas nos grupos controle, diabético e obeso do testículo <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>.

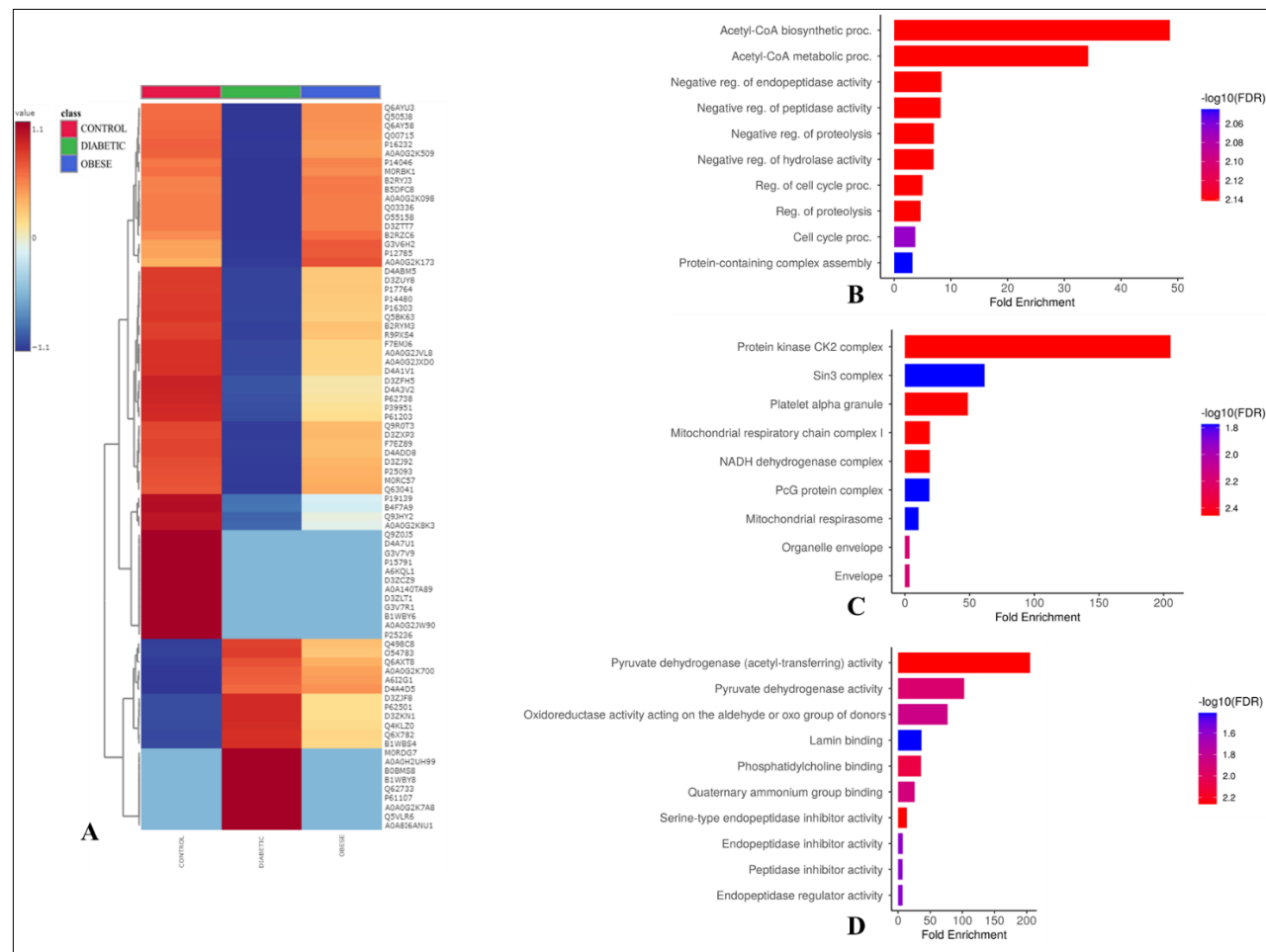
A matriz de proteínas do testículo foi submetida a análise de biomarcadores (curva ROC). Foram identificadas 80 proteínas, entre o grupo controle, diabético e obeso. As 80

235 proteínas foram utilizadas para a construção do *heatmap*, que revelou claramente as
236 disparidades entre os grupos, destacando-se as diferenças mais significativas entre o
237 controle e diabético (**Figura 3**).

238 A análise de interação proteína-proteína revelou que uma considerável proporção
239 das 80 proteínas diferencialmente abundantes, encontradas nos testículos de animais dos
240 grupos controle, diabético e obeso, estavam funcionalmente conectadas. Além disso,
241 foram observadas alterações em duas vias específicas: a via de sinalização Wnt,
242 importante para manutenção tecidual, e a via do spliceossomo, que atua na expressão
243 gênica e na diversidade proteica nas células eucarióticas (**Figura 4**).

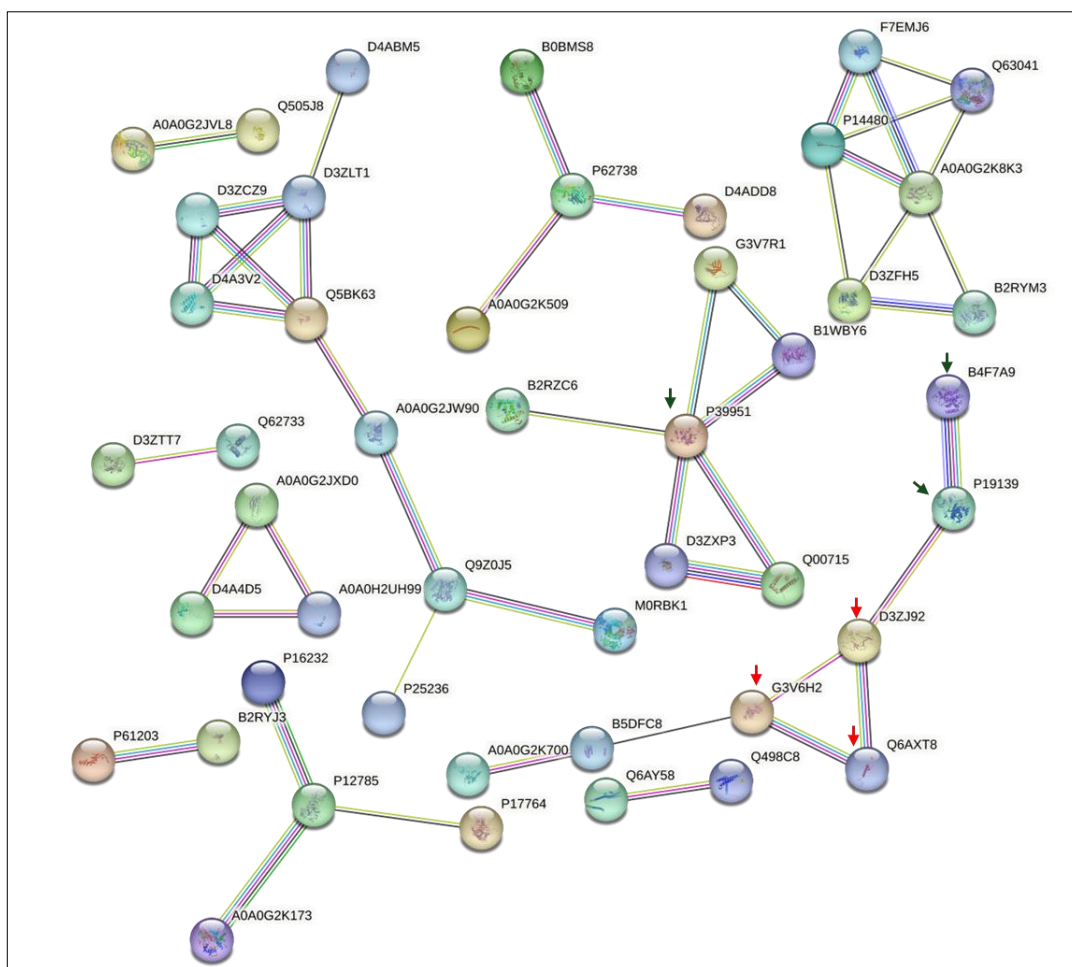
244 As proteínas da curva ROC foram pesquisadas no Uniprotkb e agrupadas de
245 acordo com a localização e sublocalização celular, resultando em 17 no citoplasma
246 (**Figura 5**), 3 no acrossomo da célula espermática (**Figura 6**), 8 na mitocôndria (**Figura**
247 **7**) e 17 no núcleo (**Figura 8**). A maioria dessas proteínas são expressas em testículos
248 humanos (**Tabela S1**),

249 A via glicólise/gliconeogênese indicou a atividade de enzimas aumentadas e
250 diminuídas, que causam danos testiculares (**Figura 9**).



251

252 **Figura 3.** Heatmap das proteínas indicadas pela curva ROC do testículo, demonstrando a abundância relativa de proteínas em cada grupo, sendo
 253 vermelha e azul, a representação de uma maior e menor abundância respectivamente (A). Ontologia gênica utilizando as categorias, processo
 254 biológico (B), componente celular (C) e função molecular (D).



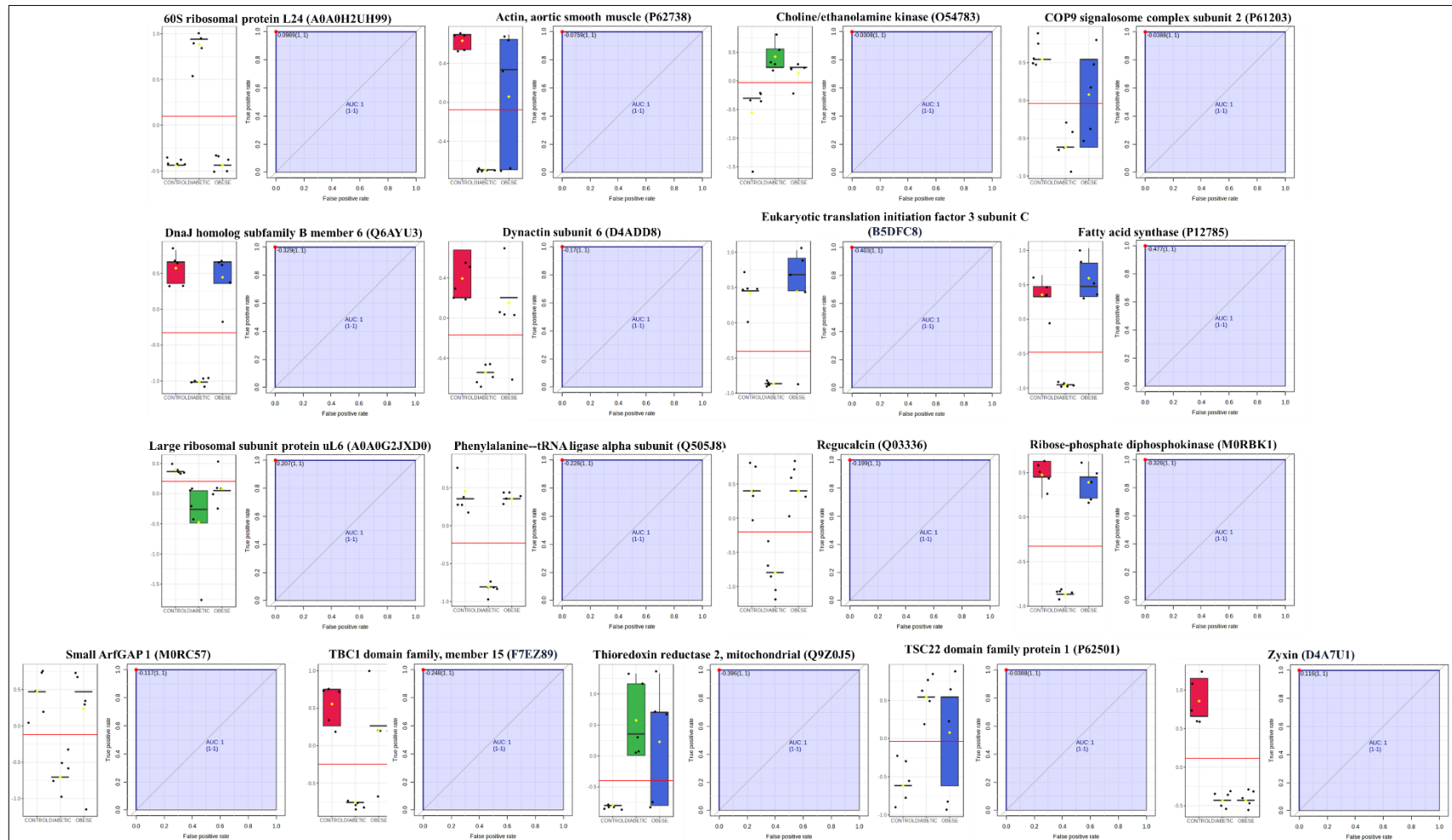
255

256

257

258

Figura 4. Rede de interação proteína-proteína. As setas pretas e vermelhas indicam as proteínas envolvidas nas vias Wnt e spliceossomo, respectivamente.



259

260

261

Figura 5. Valores AUC (> 0,80) encontrados para 17 proteínas presentes no citoplasma de células testiculares de ratos do grupo diabético e obeso *versus* controle.

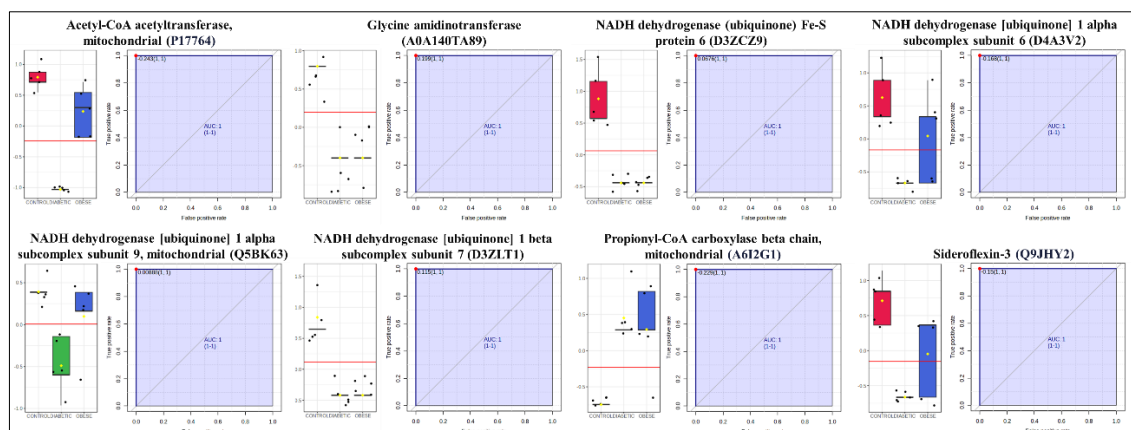


Figura 6. Valores AUC ($> 0,80$) encontrados para 8 proteínas localizadas na mitocôndria de células testiculares de ratos do grupo diabético e obeso *versus* controle.

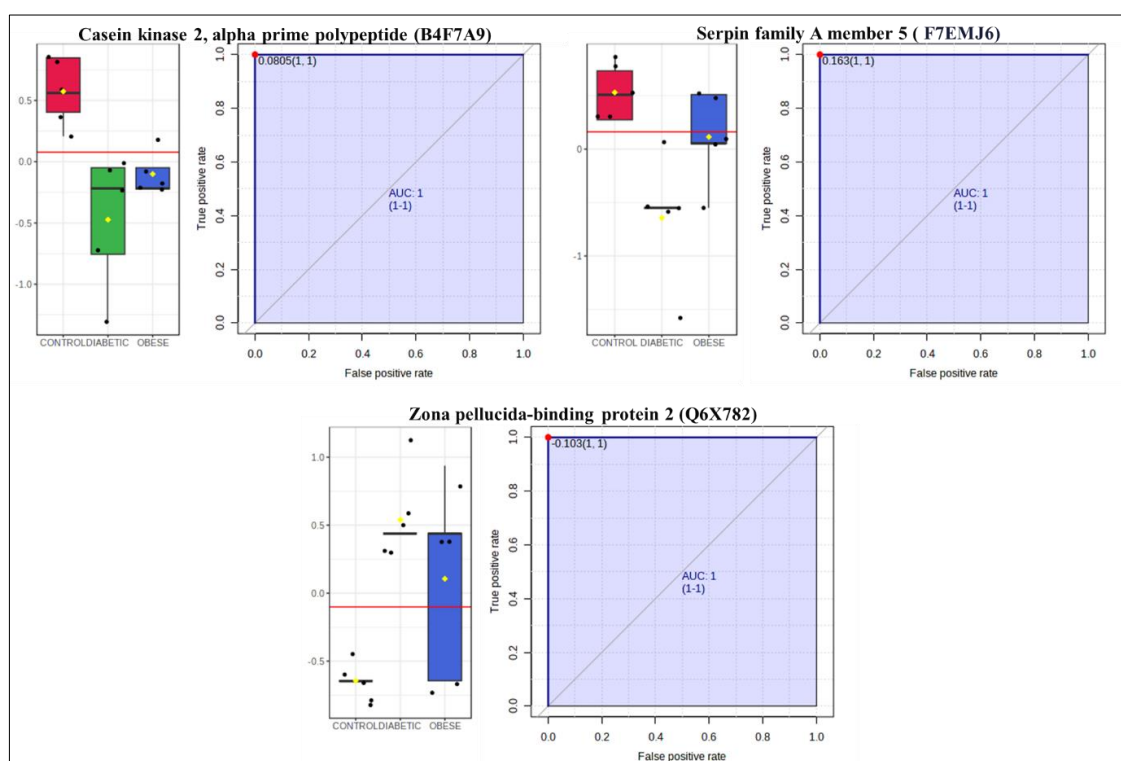


Figura 7. Valores AUC ($> 0,80$) encontrados para 3 proteínas localizadas no acrossomo da célula espermática testicular de ratos do grupo diabético e obeso *versus* controle.

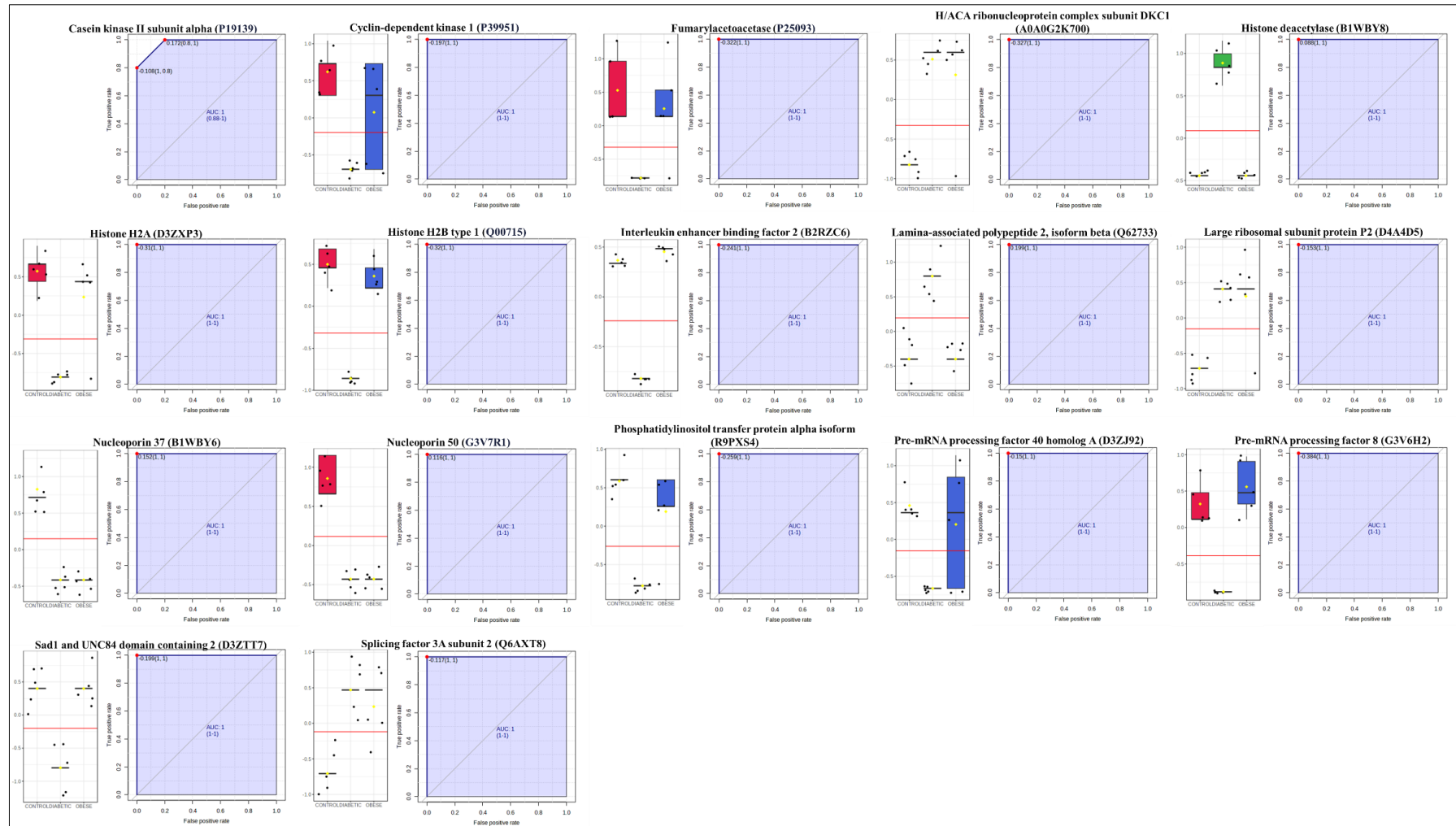


Figura 8. Valores AUC (> 0,80) encontrados para 17 proteínas presentes no núcleo de células testiculares de ratos do grupo diabético e obeso *versus* controle.

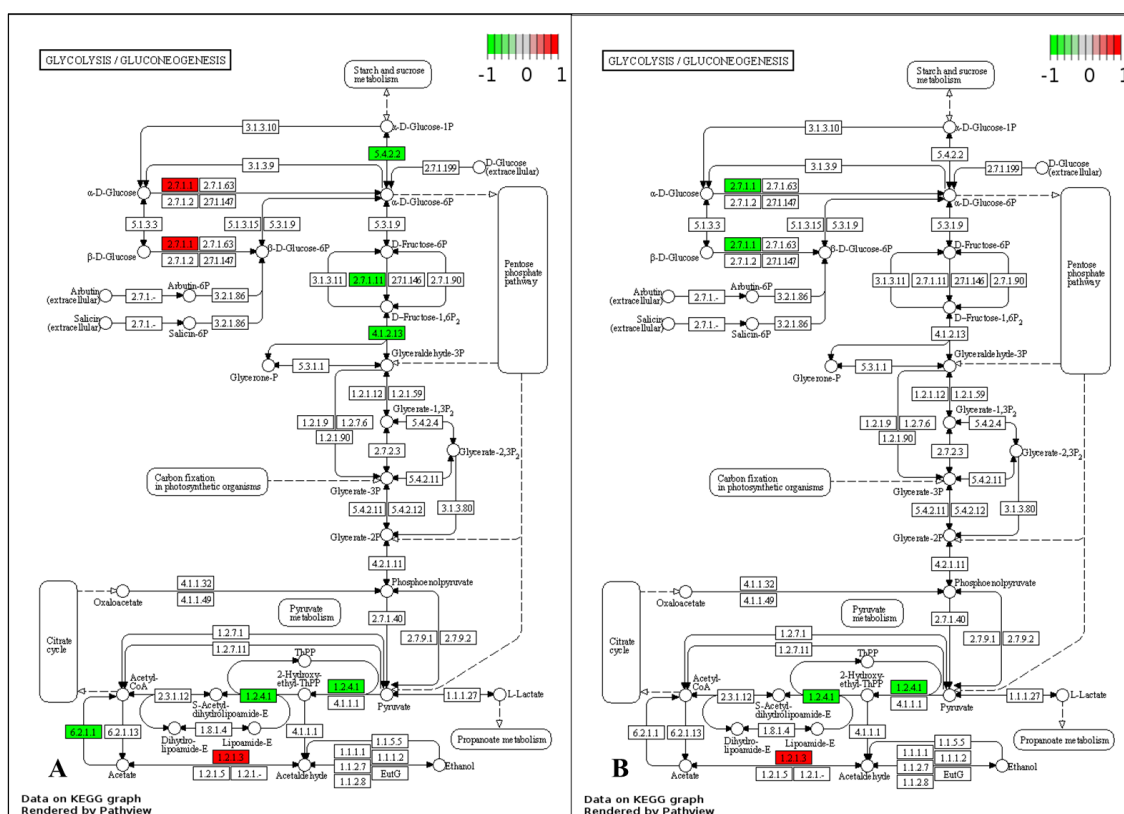


Figura 9. Enriquecimento de vias em diabéticos *versus* controle (A) e obesos *versus* controle (B). As enzimas hexoquinase [EC:2.7.1.1], aldeído desidrogenase (NAD⁺) [EC: 1.2.1.3], fosfoglucomutase [EC: 5.4.2.2], 6-fosfofrutoquinase [EC: 2.7.1.11], frutose-bifosfato aldolase, classe I [EC: 4.1.2.13], componente E1 da piruvato desidrogenase [EC: 1.2.4.1] e acetil-CoA sintetase [EC: 6.2.1.1], destacadas em verde e vermelho indicam regulação positiva e negativa respectivamente, da atividade enzimática testicular.

DISCUSSÃO

O diabetes e a obesidade influenciam diretamente no metabolismo celular, haja vista a alteração na glicose/insulina e o processo inflamatório crônico. Desta forma, os resultados encontrados nesse estudo serão discutidos de acordo com o tipo, compartimento celular e vias envolvidas.

Citoplasma

Esse estudo identificou alterações nas proteínas ribossômicas citoplasmáticas, *60S ribosomal protein L24* (RPL24 - A0A0H2UH99), *large ribosomal subunit protein uL6* (uL6 - A0A0G2JXD0), eukaryotic translation initiation factor 3 subunit C (Eif3c - B5DFC8) e *phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit* (Farsa - Q505J8) no contexto da obesidade e diabetes, que são relacionadas com os distúrbios testiculares associados a

desregulação de vias de sinalização do metabolismo celular^{33,34}. Observamos que ratos com obesidade e diabetes exibiram uma diminuição da proteína UL6, enquanto ratos com diabetes apresentaram redução nas proteínas RPL24, eif3c e Farsa, quando comparados ao grupo controle. Essas proteínas atuam na biogênese e maturação do ribossomo processo que ocorre no citoplasma das células eucarióticas^{35,36}, bem como na síntese proteica e homeostase celular³⁷

O aumento da RPL24 é associado a indivíduos astenozoospermicos³⁸. Já a eIF3c garante que apenas mRNA necessários para a diferenciação das espermátides em espermatozoides funcionais, sejam mantidos durante a espermatogênese tardia,³⁹ sendo associada a regulação da infertilidade masculina idiopática⁴⁰. A diminuição da Farsa compromete a fragmentação do DNA espermático, alterando a capacidade dos espermatozoides de produzirem proteínas essenciais para sua função⁴¹. O comprometimento das proteínas ribossômicas acarreta diminuição na síntese proteica e crescimento celular. Essas alterações podem ser exacerbadas em condições como obesidade e diabetes, que estão associadas a danos testiculares, incluindo estreitamento dos túbulos seminíferos, diminuição nas enzimas antioxidantes, aumento nos marcadores pró-inflamatórios e pró-apoptóticos e degeneração das células germinativas^{33,42-44}.

As proteínas *actin*, *aortic smooth muscle* (Acta2 - P62738) e *choline/ethanolamine kinase* (Chk/Ethk - O54783), ambas associadas a função contrátil e remodelação testicular, apresentaram diferentes abundâncias significativas em diabéticos e obesos, quando comparadas ao controle. A Acta2 foi encontrada diminuída, sugerindo possíveis disfunções na contratilidade e na manutenção da estrutura testicular. Por outro lado, a Chk/Ethk, foi encontrada aumentada, indicando possíveis adaptações compensatórias.

A diminuição da Acta2 em ratos diabéticos e obesos corroboram com a importância dessa proteína na função testicular. A Acta2 tem sua expressão iniciada durante a puberdade e é estimulada pelos andrógenos, impulsionada pelo hormônio folículo-estimulante (FSH), atingindo o pico na idade^{45,46}. Além disso, regula a função das células peritubulares testiculares, especialmente no transporte de espermatozoides e na integridade estrutural dos túbulos seminíferos⁴⁷. A Acta2 está envolvida nos processos de remodelação testicular em resposta à inflamação e lesão, quando o dano é extenso ou crônico, resultando em fibrose testicular,⁴⁸ que leva ao declínio progressivo da expressão e função gênica das células de Sertoli e Leydig⁴⁹. A inflamação e fibrose testicular são descritas em camundongos e ratos diabéticos e obesos^{19,50}.

327 A Chk/Ethk é abundante em testículos de camundongo e rato, sugerindo papel
328 importante dessas quinases na fisiologia e função celular nos testículos ⁵¹. Camundongos
329 machos deficientes de Chk/Ethk, são inférteis, com perda de células germinativas antes
330 da entrada meiótica, devido aumento de apoptose, aumento dos danos oxidativos ao
331 DNA, prejudicial a espermatogênese⁵². Esse estudo encontrou uma maior abundância da
332 Chk/Ethk em ratos obesos e diabéticos, quando comparados ao controle, sugerindo
333 mecanismo compensatório aos distúrbios supracitados.

334 A redução das proteínas *COP9 signalosome complex subunit 2* (Cops2 - P61203)
335 em obesos e diabéticos, juntamente com a redução de *small ArfGAP 1* (SMAP1 -
336 M0RC57), *TBC1 domain family, member 15* (TBC1D15 - F7EZ89) e *DnaJ homolog*
337 *subfamily B member 6* (Dnajb6 - Q6AYU3) em diabéticos, quando comparados ao
338 controle, sugere um possível impacto dessas proteínas no transporte e regulação do
339 tráfego intracelular, com implicações significativas na homeostase celular⁵³⁻⁵⁵.

340 A Cops2, é abundante no espermatozoide, onde participa em processos de
341 apoptose e transdução de sinal ⁵⁵. Em drosófilas, sua homóloga, CSN2, controla o
342 microambiente celular da linhagem germinativa e permite que as células de Sertoli
343 cresçam e mantenham extensões citoplasmáticas ao redor das células germinativas ⁵⁶. A
344 SMAP1 atua como uma proteína ativadora de GTPase (GAP) para o fator de ribosilação
345 do ADP, garantindo o direcionamento adequado das proteínas endocitadas para destinos
346 celulares corretos ^{53,54}. A baixa abundância da SMAP1 é associada a formação
347 prejudicada do acrossomo em espermátides, estando relacionada à globozoospermia ^{57,58}.
348 A TBC1D15, também é uma proteína ativadora de GTPase ⁵⁹, e atua na formação da
349 bainha mitocondrial durante a espermatogênese ^{60,61}. A Dnajb6 é relacionada à
350 manutenção da proteostase, específica nas células da membrana basal dos túbulos
351 seminíferos humanos ⁶², importante na prevenção de formação de agregados proteicos
352 indesejados durante a espermatogênese, suas alterações podem ter implicações
353 significativas na regulação da qualidade das proteínas e no desenvolvimento normal dos
354 espermatozoides ⁶³.

355 Portanto, é plausível inferir que a diminuição dessas proteínas em diabéticos pode
356 contribuir de maneira mais substancial para os distúrbios testiculares observados na
357 formação e função dos espermatozoides.

358 A diminuição das proteínas *dynactin subunit 6* (Dctn6 - D4ADD8) em diabéticos
359 e *Zyxin* (D4A7U1) em diabéticos e obesos, sugere uma possível disfunção no
360 citoesqueleto e na organização da membrana celular durante a espermatogênese. A Dctn6

desempenha um papel crucial na formação e crescimento das espermatídes, e alterações em sua abundância podem afetar negativamente a produção e maturação dos espermatozoides. Estudos anteriores realizados em *Drosófila* também evidenciaram os efeitos adversos dessas alterações na espermatogênese⁶⁴⁻⁶⁶. Além disso, a diminuição da *Zyxin* pode comprometer a regulação dinâmica da junção durante a espermatogênese, associada ao complexo caderina/catenina/actina, influenciando a organização do citoesqueleto e a estrutura das células germinativas, predominantemente em espermátócito, espermatídes alongadas e células de Sertoli^{67,68}.

Os resultados do estudo anterior, Carvalho et al²⁴, corroboram com os achados supracitados sobre as proteínas *Dctn6* e *Zyxin*, cujas alterações estão associadas à produção e maturação dos espermatozoides. Foram identificadas cinco proteínas com função estrutural menos abundantes em indivíduos diabéticos e obesos, enquanto duas foram mais abundantes apenas em indivíduos obesos. Essas alterações estão consistentes com os aumentos observados nos defeitos de cabeça e cauda nos espermatozoides de diabéticos, e apenas defeitos de cabeça em espermatozoides de ratos obesos, indicando uma possível relação entre a expressão dessas proteínas e a morfologia espermática comprometida nessas condições metabólicas.

A *fatty acid synthase* (Fasn - P12785), está envolvida no metabolismo dos ácidos graxos durante a espermatogênese, presente em células de Sertoli, espermatídes alongadas e células de Leydig em homens⁶⁹, e sua regulação inadequada está associada a distúrbios na espermatogênese,⁷⁰. A redução dos ácidos graxos pode afetar negativamente a maturação e qualidade dos espermatozoides e compreender os efeitos dos disruptores endócrinos na saúde reprodutiva masculina⁷¹.

A redução da concentração de insulina resulta na queda da concentração de acetato intratesticular, intermediário para a síntese de ácidos graxos e colesterol, em subprodutos necessários para a síntese lipídica e remodelação nas células germinativas em desenvolvimento⁷². Alterações insulínicas são acarretadas pelo diabetes, o que sugere que esses efeitos podem ser mais prejudiciais nos indivíduos diabéticos. A Fasn foi severamente reduzida nos animais diabéticos do presente estudo, quando comparada ao grupo controle e obeso.

A diminuição da proteína *regucalcin* (RGN - Q03336) em diabéticos, juntamente com o aumento da *thioredoxin reductase 2* (Trxr2 - Q9Z0J5) em diabéticos e obesos, sugere uma disfunção na regulação da apoptose e viabilidade celular nos testículos desses indivíduos. A presença de RGN, uma proteína de ligação ao cálcio, em células de Sertoli

e Leydig em todas as fases do desenvolvimento das células germinativas, sugere seu papel crucial na viabilidade e motilidade dos espermatozoides, bem como na melhoria da morfologia espermática e na redução da apoptose testicular ⁷³⁻⁷⁶. Por outro lado, o aumento na Trxr2, uma proteína mitocondrial ⁷⁷, pode estar associado a um aumento no potencial da membrana mitocondrial e na síntese de ATP, contribuindo para a manutenção da função mitocondrial e da viabilidade celular espermática ⁷⁸.

Essas proteínas podem ter papéis complementares, pois a síntese de ATP, resulta no fechamento dos canais de potássio e despolarização da membrana celular. Isso desencadeia a abertura de canais de cálcio, levando à entrada de cálcio no citoplasma e, por fim, à liberação e síntese de insulina ⁷⁹⁻⁸¹. Alterações em proteínas relacionadas aos componentes dessas vias metabólicas, podem resultar em diminuição da motilidade celular, incluindo a motilidade espermática, relatada em indivíduos diabéticos e obesos ¹⁵.

A diminuição da proteína *ribose-phosphate diphosphokinase* (Prps111 - M0RBK1) em indivíduos diabéticos e obesos, juntamente com o aumento da *TSC22 domain family protein 1* (TSC22D - P62501), quando comparados ao grupo controle, sugere uma possível associação dessas proteínas com distúrbios no desenvolvimento testicular. A Prps111 é correlacionada a síndrome das células de Sertoli, uma anormalidade testicular na qual apenas as células de Sertoli revestem os túbulos seminíferos. Essa síndrome, corresponde a cerca de 20% dos casos de azoospermia em homens ⁸². O Prps111 exibe níveis de abundância distintos ao longo do desenvolvimento testicular, indicando potenciais implicações nos processos biológicos associados à maturação ⁸³. Já a menor abundância da TSC22D1 em pacientes com azoospermia comparados a adultos com espermatogênese normal, sugere disfunções no desenvolvimento testicular e na homeostase celular ⁸⁴. Curiosamente nossos resultados encontrados foram inversos aos descritos na literatura, sugerindo uma interação entre essas proteínas, em testículo de obesos e diabéticos, já que ambas são relacionadas ao desenvolvimento testicular.

Célula espermática

Foram identificadas três proteínas localizadas na célula espermática: *Serpin family A member 5* (SERPINA5 - F7EMJ6), localizada na membrana acrossomal e lado externo da membrana plasmática, a *Zona pellucida-binding protein 2* (ZPBP2 - Q6X782)

428 localizada no acrossomo e a *Casein kinase 2, alpha prime polypeptide* (CK2 α - B4F7A9),
429 na vesícula acrossomal.

430 A abundância de SERPINA5 e CK2 α foi notavelmente reduzida em animais
431 diabéticos, e diminuída em obesos, em comparação com o grupo controle. Por outro lado,
432 os níveis de ZBP2 estavam aumentados em animais diabéticos e obesos, o que contrasta
433 com as descobertas anteriores ^{85,86}. Essas variações nas proteínas sugerem a complexidade
434 dos processos moleculares subjacentes à espermatogênese e fertilidade, podendo ser
435 indicadas como biomarcadores da infertilidade relatada em indivíduos diabéticos e obesos
436 ^{7,57}.

437 A SERPINA5 nos testículos de camundongos foi identificada, abrangendo células
438 germinativas, células de Leydig e células de Sertoli. Sua redução de expressão afeta a
439 regulação do equilíbrio proteolítico nas células de Leydig, e a metabolização dos
440 constituintes da matriz extracelular. Esses processos têm o potencial de influenciar a
441 esteroidogênese e, por conseguinte, impactar a resposta às vias de estimulação hormonal
442 ⁸⁷. A supressão do gene SERPINA5 em modelos de camundongos levou a infertilidade,
443 resultando em alterações no metabolismo das prostaglandinas nos testículos ⁸⁸. Sua
444 diminuição também é associada a espermáticos anômalos, em relação aos homens férteis,
445 e correlacionou-se com uma baixa taxa de reação acrossômica ⁸⁹. A SERPINA5 atua no
446 processo de espermatogênese e na regulação do desenvolvimento testicular em humanos
447 (Yang et al., 2018; Rockenbach et al., 2023). Em pacientes com hipogonadismo
448 secundário, a SERPINA5 foi identificada como uma das proteínas diferencialmente
449 expressas nos espermatozoides em comparação com indivíduos férteis ⁹¹.

450 A *zona pellucida-binding protein 2* (ZBP2) tem sido objeto de estudo em
451 contextos relacionados a espermatogênese e a recuperação de espermatozoides por micro-
452 TESE em pacientes com azoospermia não obstrutiva ⁹². Estudos em camundongos
453 revelaram que anticorpos direcionados contra ZBP2 inibem a manutenção da ligação
454 dos espermatozoides à zona pelúcida após a reação acrossômica, assim a ZBP2 atua
455 como um receptor secundário mediando a interação entre espermatozoide e oócito
456 durante a fertilização ^{86,93}. A interrupção do gene *Zbp2* em camundongos resulta em
457 subfertilidade devido a anormalidades nos espermatozoides, os quais foram classificados
458 como dismórficos devido a invaginações aberrantes da membrana acrossomal ^{85,86}.

459 A CK2 α , uma das subunidades catalíticas da caseína quinase 2, nos testículos de
460 camundongos determinado por *Western blotting* em quantidades significativas, e está
461 envolvida em processos de sinalização celular, regulação da expressão gênica e

modulação de vias de transdução de sinal específicas desse tecido ⁹⁴. A CK2 α atua na condensação da cromatina durante a espermatogênese, contribuindo para a integridade nuclear das células germinativas masculinas ⁹⁵. A deficiência de CK2 α pode comprometer a fosforilação de proteínas nucleares em células germinativas masculinas, resultando em uma via distinta de morte celular caracterizada por anormalidades no envelope nuclear e padrões atípicos de modificações na cromatina nas espermátides ⁹⁶. Este estudo identificou 17 proteínas nucleares alteradas, podendo estarem correlacionadas com as funções da CK2 α .

470

471 Mitocôndria

472 A *sideroflexin-3* (SFXN3 - Q9JHY2) foi menos abundante em obesos e diabéticos, enquanto a *Propionyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial* (PCCB - A6I2G1) foi 473 mais abundante em obesos e diabéticos, quando comparados ao controle. A SFXN3, 474 presente na membrana mitocondrial interna ⁹⁷, atua no transporte de aminoácidos, como 475 alanina, cisteína e glicina, inseridos em vias metabólicas celulares nas mitocôndrias, 476 garantindo a homeostase celular e a proliferação adequada das células ⁹⁸, mas a função 477 específica da SFXN3 em testículos precisa ser explorada. Já a principal função da PCCB 478 é catalisar a conversão do propionil-CoA em metilmalonil-CoA, um passo essencial no 479 ciclo de ácido cítrico, para síntese de ácidos graxos e na produção de energia ⁹⁹, esses 480 achados corroboram com as alterações na atividade enzimática em etapas deste ciclo, nos 481 testículos de diabéticos e obesos no presente estudo.

482
483 A *acetyl-CoA acetyltransferase, mitochondrial* (Acat1 - P17764), encontrada 484 diminuída nos obesos e diabéticos, desempenha um papel na síntese e degradação de 485 lipídios, incluindo a produção de colesterol, um precursor da síntese de hormônios 486 esteroides, como a testosterona ¹⁰⁰. Essa proteína está associada a involução testicular, 487 que está correlacionada a depleção de células germinativas ¹⁰¹. A redução de lipídios é 488 atribuída a danos nas células de Sertoli e Leydig com consequente redução de hormônios 489 esteroides ^{102,103}.

490 As proteínas *NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 7* 491 (Ndufb7- D3ZLT1), *NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 9,* 492 *mitochondrial* (Ndufa9 - Q5BK63), *NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha* 493 *subcomplex subunit 6* (Ndufa6 - D4A3V2) e *NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S* 494 *protein 6* (Ndufs6 - D3ZCZ9), fazem parte da cadeia respiratória mitocondrial, 495 especificamente do complexo I ¹⁰⁴. O complexo mitocondrial I é o maior da cadeia

496 respiratória. Sua principal função é acoplar a transferência de elétrons do NADH para a
497 ubiquinona, enquanto bombeia prótons através da membrana mitocondrial interna. Esse
498 processo gera a força motriz do próton, que é utilizada na síntese de ATP e formação de
499 espécies reativas de oxigênio mitocondriais ¹⁰⁵⁻¹⁰⁷.

500 Com exceção da Ndufa6 que não foi validada em testículo humano, as demais
501 proteínas estão validadas nas células de leydig e sertoli. A Ndufa9 também em
502 espermatogônia, e a Ndufs6 em espermátides; espermátócitos, e espermatogônia, no
503 testículo humano ¹⁰⁸

504 A Ndufb7 foi identificada aumentada no presente estudo em diabéticos e obesos,
505 corroborando com os achados na literatura, e seu aumento está associado ao estresse
506 térmico no testículo de carneiro ¹⁰⁹. O aumento da gordura escrotal em camundongos
507 obesos, leva a uma redução na contagem de espermatozoides e no peso testicular,
508 indicando uma possível deterioração na qualidade do sêmen ¹¹⁰. Já as proteínas Ndufa9 e
509 Ndufa6 foram diminuídas nos diabéticos, como já relatado, e a diminuição é associada as
510 alterações ultraestruturais nas mitocôndrias e formação de mitofagossomas nas células de
511 Leydig ¹¹¹. A Ndufs6 foi menos abundante em obesos e diabéticos, o que compromete as
512 células de leydig, acarretando redução da esteroidogênese ¹¹²

513 A *glycine amidinotransferase* (Gatam - A0A140TA89), é uma enzima envolvida
514 em vias metabólicas no organismo, incluindo o metabolismo e/ou transporte de creatina
515 para funções reprodutivas masculinas ¹¹³. A Gatam foi menos abundante em diabéticos e
516 obesos, quando comparados ao controle. A formação de grandes agregados proteicos
517 mitocondriais devido a interação entre as moléculas de gatam pode ter implicações
518 significativas na função mitocondrial e no metabolismo celular como um todo, causando
519 disfunções mitocondriais ¹¹⁴, que afetam a espermatogênese e a função testicular ^{115,116}.

520 As mitocôndrias presentes nas células de Leydig atuam na produção de
521 testosterona, essencial para a espermatogênese e processos relacionados a manutenção da
522 barreira sanguínea testicular, meiose, adesão Sertoli-espermátide e a liberação de
523 espermatozoides ^{117,118}. Danos às mitocôndrias testiculares resultam em
524 comprometimento do metabolismo energético e disfunção celular, levando a morte
525 celular e prejudicando a função espermática ^{119,120}.

526 A redução quantitativa das células de Sertoli e Leydig são identificas em obesos e
527 diabéticos ^{24,121} e em diabéticos, alterações mitocondriais testiculares foram relacionadas
528 às alterações em células de Sertoli e presença de gotículas lipídicas em células de Leydig
529 (Kianifard et al., 2012). Em nosso estudo prévio ²⁴, identificamos diferenças na

abundância de cinco proteínas relacionadas a respiração celular, em células espermáticas de ratos obesos e diabéticos. Esses achados sugerem que os defeitos mitocondriais observados durante a espermatogênese podem persistir nos espermatozoides.

Na interseção da obesidade e diabetes, sugere-se que as mitocôndrias são as organelas mais suscetíveis a disfunções, desencadeando uma cascata de efeitos adversos. A interação prejudicada entre glicose e insulina compromete a síntese eficaz de ATP, essencial para a funcionalidade celular. No contexto testicular, onde há uma demanda energética considerável para processos como a espermatogênese, essa deficiência energética pode ter repercussões significativas.

Núcleo

As proteínas *cyclin-dependent kinase* (CDK1 - P39951), *interleukin enhancer binding factor 2* (Ilf2 - B2RZC6), *nucleoporin 50* (Nup50 - G3V7R1), *nucleoporin 37* (Nup37 - B1WBY6), *histone H2A* (H2A - D3ZXP3) e *histone H2B type 1* (H2B - Q00715), foram identificadas diminuídas em diabéticos, enquanto nos obesos estavam diminuídas as proteínas Nup50 e Nup37 e aumentadas as proteínas Ilf2, H2A e H2B, quando comparadas ao controle.

A CDK1 é essencial para o controle do ciclo celular, regulando tanto o ciclo centrossômico quanto o início da mitose das espermatogônias (C. Zhao et al., 2023) e foi demonstrado que sua deficiência compromete a formação dos cromossomos bivalentes durante a meiose I, resultando em uma parada na pró-metáfase e afetando a produção funcional de espermatozoides (Clement et al., 2015). Isso sugere um elo entre a regulação do ciclo celular e a espermatogênese comprometida em diabéticos, já que essa proteína não foi afetada em obesos.

A ILF2 está localizada na cromatina dos espermátócitos, indicando sua atividade dentro dessa estrutura celular ¹²⁵, essa proteína é regulada negativamente em homens atenozoospermicos, sendo associada a maturação adequada do esperma e a integridade do transcriptoma espermático, possivelmente interagindo com fatores de transcrição e reguladores epigenéticos ³⁸. As modificações epigenéticas têm o potencial de influenciar a suscetibilidade individual à obesidade e ao diabetes, bem como a progressão dessas condições ao longo do tempo ¹²⁶, compreender essas modificações pode fornecer *insights* importantes para o desenvolvimento de tratamento para os efeitos dessas doenças metabólicas no testículo.

563 As proteínas NUP37 e NUP50 são componentes do complexo de poros nucleares,
 564 altamente expressas no envelope nuclear das células testiculares, facilitando o transporte
 565 seletivo de moléculas entre o núcleo e o citoplasma, participando da organização
 566 estrutural do núcleo ¹²⁷⁻¹²⁹, evento que ocorre ao longo da espermatogênese humana. A
 567 diminuição de ambas as proteínas em diabéticos e obesos, leva ao comprometimento da
 568 espermatogênese, devido ao estresse que interfere nos processos de transporte nuclear,
 569 acarretando a perda da fertilidade ¹³⁰.

570 As proteínas H2A e H2B, desempenham papéis importantes na regulação da
 571 expressão gênica, integridade cromossômica, recrutamento de fatores de reparo de DNA
 572 e na modificação da estrutura da cromatina para facilitar a reparação do DNA danificado
 573 para a espermatogênese, em diferentes tipos de células germinativas, como espermátides
 574 e espermátócitos, indicando uma função específica durante o desenvolvimento dos
 575 espermatozoides e função espermática, em camundongos e humanos ^{131,132}.
 576 Camundongos machos deficientes em H2A e H2B apresentam maior retenção de histonas
 577 durante o processo de espermiogênese, o que resulta em infertilidade nesses animais ¹³³ As
 578 proteínas H2A e H2B, foram menos abundantes em diabéticos e mais abundantes em
 579 obesos, sugerindo que os efeitos deletérios acometem mais testículos de diabético, em
 580 comparação com mecanismos compensatórios observados nos obesos.

581 Em nossos resultados as proteínas *casein kinase II subunit alpha* (Csnk2a1 -
 582 P19139), foi menos abundante em diabéticos e obesos, a *splicing factor 3A subunit 2*
 583 (Sf3a2 - Q6AXT8), foi mais abundante em diabéticos e obesos, e as *proteínas pre-mRNA*
 584 *processing factor 40 homolog A* (PRPF40A - D3ZJ92) e *pre-mRNA processing factor 8*
 585 (PRPF8 - G3V6H2) foram menos abundantes somente em diabéticos, quando
 586 comparadas ao controle.

587 A proteína Csnk2a1 participa da organização, regulação e funcionalidade do
 588 núcleo celular no contexto testicular, sua diminuição leva a anormalidades nucleares e
 589 defeitos no envelope nuclear de espermátides ⁹⁶. Além disso, foi observado que a Csnk2a1
 590 pode regular as funções do spliceossomo, um complexo ribonucleoproteico essencial no
 591 processo de *splicing*, responsável por remover íntrons pré-mRNA e produzir RNAm
 592 maduros que codificam proteínas ^{134,135}.

593 As proteínas PRPF8, Sf3a2 e PRPF40A estão diretamente envolvidas na
 594 montagem e atividade funcional do spliceossomo ¹³⁶⁻¹³⁸, evidenciado pelo interatoma por
 595 meio da análise da rede de interação de proteínas utilizando a ferramenta *String*. No
 596 contexto testicular e da espermatogênese, o spliceossomo desempenha um papel crucial

na regulação da expressão gênica durante o desenvolvimento e diferenciação das células germinativas masculinas, destacando sua importância para a produção adequada de espermatozoides funcionais ¹³⁹. As alterações do spliceossomo em obesos e diabéticos são associadas a interação dependente glicose-insulina, alterando o metabolismo energético ¹⁴⁰.

A proteína PRPF8 atua na regulação da expressão gênica, maturação do espermatozoides e integridade do transcriptoma espermático ⁽³⁸⁾. Por outro lado, a regulação negativa da proteína Sf3a2 é relatada em homens com azoospermia *Maturation Arrest* e *Sertoli Cell-Only Syndrome*, caracterizadas pela ausência de espermatozoides no ejaculado devido a anormalidades na produção testicular ¹³⁷. Além disso, a PRPF40A está envolvida na produção aumentada de circRNAs exônicos nos testículos, o que indica sua relevância na regulação do *splicing* testicular e na estrutura da cromatina ¹⁴¹, sendo sugerida como potencial biomarcador para o diagnóstico e tratamento da azoospermia não obstrutiva ^{142,143}.

As proteínas *lamina-associated polypeptide 2*, isoform beta (LAP2 β - Q62733) *sad1 and UNC84 domain containing 2* (Sun2 - D3ZTT7), atuam na função dentro das células germinativas masculinas durante o processo de espermatogênese. Tanto a LAP2 β quanto Sun2 desempenham funções na organização da estrutura nuclear e na interação com componentes nucleares, como cromatina e lâminas nucleares, provavelmente desempenhados papéis complementares na diferenciação das células germinativas masculinas, contribuindo para a formação adequada de espermatozoides ¹⁴⁴⁻¹⁴⁶. Esse conjunto de interação também foi evidenciado usando o *String*, nos testículos de ratos diabéticos e obesos. A LAP2 β e a Sun2, foram identificadas aumentada e diminuída em diabéticos, sem alterações no obeso, quando comparados ao controle.

A LAP2 β é uma proteína identificada tanto em espermátides humanas quanto em ratos durante o processo de espermiogênese ^{145,146}. Durante a espermiogênese, observa-se que a LAP2 β exibe uma distribuição específica, inicialmente, está presente na periferia nuclear das espermátides redondas e, posteriormente, migra para um ponto no polo posterior (centriolar) do núcleo nas espermátides alongadas ^{146,147}. Esse padrão de localização sugere um papel dinâmico da LAP2 β na regulação da expressão gênica, organização nuclear e diferenciação celular durante o processo de desenvolvimento testicular ¹⁴⁶.

A proteína Sun2 é altamente expressa nos testículos, onde desempenha papéis cruciais na espermatogênese e na diferenciação das células germinativas masculinas,

631 como a fixação movimento dinâmico dos telômeros ao envelope nuclear durante a
632 formação cromossômica, na prófase I meiótica, ao longo do processo de maturação
633 espermática, importante para a produção adequada de espermatozoides funcionais ^{144,146}.

634 As proteínas *phosphatidylinositol transfer protein alpha isoform* (PITP -
635 R9PXS4) e *fumarylacetoacetase* (FAH -P25093), foram identificadas menos abundantes
636 em diabéticos, enquanto a *H/ACA ribonucleoprotein complex subunit DKC1* (H/ACA -
637 A0A0G2K700) foi mais abundante em diabéticos. Já as proteínas *large ribosomal subunit*
638 *protein P2* (RPLP2- D4A4D5) e *histone deacetylase* (HDAC - B1WBY8) foram mais
639 abundantes em obesos e diabéticos quando comparadas ao controle. Todas as proteínas
640 possuem funções diversificadas no núcleo, no entanto desempenham papeis importante.

641 A função do complexo H/ACA é eficientemente produzir ribossomos por meio da
642 pseudouridilação, uma modificação pós-transcricional crucial para a montagem e função
643 adequada dessas estruturas ribossômicas ¹⁴⁸. No presente estudo tivemos a alteração de 4
644 proteínas ribossomais (RPL24, uL6, Eif3c, Farsa) cuja alterações na abundância, no
645 contexto da obesidade e diabetes, foram relacionadas com os distúrbios testiculares
646 devido a diminuição na síntese proteica e ao comprometimento do crescimento celular,
647 sugerindo interações entre essas proteínas nos testículos.

648 A H/ACA possui a subunidade DKC1, envolvida na adição de sequências
649 repetitivas de telômeros, ajudando a proteger os cromossomos do encurtamento durante
650 a replicação do DNA manutenção dos telômeros ¹⁴⁹, importante para estabilidade
651 genômica e regulação da expressão gênica, através da modificação de RNA, o complexo
652 H/ACA pode influenciar a estabilidade e a tradução de mRNA, potencialmente
653 impactando uma variedade de processos celulares, como a espermatogênese e na
654 produção de espermatozoides saudáveis ⁶³.

655 Nossa hipótese é de que o aumento do complexo H/ACA, observado
656 exclusivamente em animais diabéticos, atua como um possível mecanismo
657 compensatório. Esta descoberta é significativa, uma vez que a maioria das proteínas
658 nucleares identificadas no estudo mostraram alterações apenas em indivíduos diabéticos.
659 Esses achados sugerem que o aumento do complexo H/ACA pode estar associado à
660 melhoria na produção eficiente de ribossomos, visando potencialmente otimizar a síntese
661 proteica, um processo crucial para a função nuclear.

662 A proteína *fumarylacetoacetase* (FAH) é associada ao acúmulo do ácido
663 fumarioacetoacético (FAA), um intermediário metabólico. Este composto tóxico foi
664 comprovadamente associado a efeitos mutagênicos e citotóxicos, por anormalidades

mitóticas e instabilidade genômica, bem como por ativar a via ERK^{150,151}, responsável pelo estímulo à proliferação celular durante o desenvolvimento testicular, incluindo a proliferação das células germinativas, Sertoli e Leydig, sendo associada a condições patológicas que afetam a fertilidade masculina, como danos causados por toxinas ambientais ou estresse oxidativo¹⁵².

A diminuição da FAH ocorreu apenas em testículos de ratos diabéticos. A citotoxicidade testicular em diabéticos, ocorre devido a inflamação crônica, causada pela hiperglicemia. O aumento de glicose sérica, acarreta a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) e diminuição dos níveis de antioxidantes, resultando na apoptose e atrofia testicular¹⁵³⁻¹⁵⁵. A diminuição da HDAC, causa atrofia testicular, levando a um aumento na acetilação das histonas, como a H2A e H2B, culminando na interrupção do ciclo celular, e consequente apoptose e depleção de espermátides (Hamer et al., 2003). Curiosamente no presente estudo a proteína HDAC foi mais abundante, enquanto as proteínas H2A e H2B foram menos abundantes em diabéticos respectivamente. Como a interação entre essas proteínas foi relatada, o equilíbrio entre elas pode indicar um mecanismo de proteção contra os danos testiculares causados pelo diabetes.

A PITP α desempenha um papel na regulação dos fosfatos de fosfatidilinositol (PIPs) dentro das células, facilitando o transporte deste componente entre membranas celulares, envolvido na proliferação das células-tronco da linhagem germinativa no testículo, sobrevivência das espermatogônias, citocinese dos espermátócitos e na polarização das espermátides durante a espermatogênese. A regulação adequada desses lipídios também está relacionada a formação da cauda do espermatozoide maduro e móvel, influenciando diretamente a qualidade e a motilidade dos espermatozoides¹⁵⁷.

A RPLP2 atua como um gene de referência estável e confiável para normalização de dados de expressão gênica em espermatozoides humanos¹⁵⁸, estão presentes na subunidade ribossômica 60S, com funções reguladas por modificações pós-traducionais, o que pode explicar a estabilidade da expressão da RPLP2, em estudos relacionados à fertilidade masculina e qualidade do esperma^{159,160}, pois sua diminuição é associada a indivíduos com astenozoospermia¹⁶¹, e no presente estudo essa proteína foi mais abundante em obesos e diabéticos.

697 **Via glicólise/gliconeogênese**

698 A análise das vias metabólicas glicólise/gliconeogêneses por meio do KEGG, indicou a
699 diminuição da atividade da enzima piruvato desidrogenase (PDH) em obesos e diabéticos,
700 a qual catalisa a conversão do piruvato em acetil-CoA, substrato utilizado no ciclo do
701 ácido cítrico, para a produção de ATP, sua disfunção leva ao aumento do estresse
702 oxidativo e danos celulares, devido a demanda energética ¹⁶².

703 O aumento da atividade da ALDH nos testículos de indivíduos obesos e diabéticos
704 pode representar uma resposta adaptativa para mitigar o estresse oxidativo e reduzir a
705 toxicidade dos aldeídos, convertendo o acetaldeído em compostos menos tóxicos,
706 revisado por ^{163,164}. O aumento da ALDH sugere em diabéticos e obesos, mecanismos de
707 defesa testiculares contra danos, que podem ser causados pelo aumento da PDH.

708 A atividade da enzima acetil-CoA sintetase foi diminuída apenas em diabéticos, a
709 qual é responsável por catalisar a formação de acetil-CoA a partir de acetato ¹⁶⁵ A
710 diminuição dos níveis de insulina leva a uma redução na concentração de acetato dentro
711 dos testículos. O acetato é um intermediário crucial para a síntese de ácidos graxos e
712 colesterol, os quais são fundamentais para a síntese lipídica e a remodelação das células
713 germinativas ⁷².

714 A hexoquinase é uma enzima que catalisa a fosforilação da glicose para formar
715 glicose-6-fosfato, que é um intermediário para a produção de energia e para a síntese de
716 outras moléculas importantes, como nucleotídeos e lipídios ¹⁶⁶. Em diabéticos a atividade
717 dessa enzima foi aumentada e no obeso diminuída. O aumento nos diabéticos pode
718 significar mecanismo de compensação para tentar normalizar os níveis de glicose
719 intracelular, devido a queda de insulina, evidenciado pela diminuição sequencial das
720 enzimas, fosfoglucomutase e frutose-bisfosfato aldolase classe 1, apenas em diabéticos.
721 Já em obesos a lipotoxicidade interferem na regulação da expressão e atividade
722 enzimática da hexoquinase ¹⁶⁷

723

724 **CONCLUSÃO**

725 Este estudo oferece *insights* sobre as alterações nas proteínas de células testiculares
726 associadas ao diabetes e a obesidade, abordando vias metabólicas e processos celulares
727 afetados por essas condições. As variações nas abundâncias das proteínas indicam
728 disfunções na síntese proteica, no citoesqueleto e no metabolismo de ácidos graxos, além
729 do desequilíbrio na homeostase celular, alterações na integridade mitocondrial e em
730 processos vitais, como regulação do ciclo celular e expressão gênica. Essas alterações

comprometem a espermatogênese e a fertilidade. Em síntese, este estudo indica possíveis biomarcadores e ressalta a necessidade de abordagens terapêuticas na saúde reprodutiva masculina. Os efeitos foram mais deletérios em animais diabéticos.

734

735 **CONTEÚDO ASSOCIADO**

736 **Informações de Apoio**

737 Proteínas da curva ROC expressas em testículo humano (Tabela suplementar 1).

738

739 **Notas**

740 Os autores declaram não haver conflito de interesses.

741

742 **AGRADECIMENTO**

743 Os autores agradecem o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil (código de financiamento 001). Os autores também gostariam de agradecer ao Centro Brasileiro de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEN) pela análise de espectrometria de massa.

747

748 **REFERÊNCIA**

749 (1) Ritchie, H.; Roser, M. *Obesity*. Our World in Data.
750 <https://ourworldindata.org/obesity> (accessed 2021-03-21).

751 (2) Lobstein, T.; Jackson-Leach, R.; Powis, J.; Brinsden, H.; Gray, M. Country
752 Scorecards. In *World Obesity Atlas 2023*; 2023; Vol. 5, p 60.

753 (3) Wisevoter. *Diabetes Rates by Country*. [https://wisevoter.com/country-](https://wisevoter.com/country-rankings/diabetes-rates-by-country/)
754 [rankings/diabetes-rates-by-country/](https://wisevoter.com/country-rankings/diabetes-rates-by-country/) (accessed 2023-08-15).

755 (4) Wisevoter. *Most Obese Countries*. [https://wisevoter.com/country-rankings/most-](https://wisevoter.com/country-rankings/most-obese-countries/#map)
756 [obese-countries/#map](https://wisevoter.com/country-rankings/most-obese-countries/#map) (accessed 2023-08-15).

757 (5) WHO. *Diabetes*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
758 (accessed 2023-08-15).

759 (6) WHO. *1 in 6 people globally affected by infertility: WHO*.
760 [https://www.who.int/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-](https://www.who.int/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility#:~:text=Large%20numbers%20of%20people%20are,care%20for%20those%20in%20need.)
761 [infertility#:~:text=Large%20numbers%20of%20people%20are,care%20for%20those%](https://www.who.int/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility#:~:text=Large%20numbers%20of%20people%20are,care%20for%20those%20in%20need.)
762 [20in%20need](https://www.who.int/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility#:~:text=Large%20numbers%20of%20people%20are,care%20for%20those%20in%20need.). (accessed 2023-08-15).

763 (7) Heryanto, A.; I Gusti Ngurah Pramesemara; Yukhi Kurniawan; I Gusti Ayu
764 Widiarti. Relationship Between Body Mass Index and Male Infertility at Kasih Ibu

- General Hospital Denpasar. *Indonesian Andrology and Biomedical Journal* **2022**, 3 (1), 1–6. <https://doi.org/10.20473/iabj.v3i1.35876>.
- (8) Zhang, Y.; Qi, J.; Zhao, J.; Li, M.; Zhang, Y.; Hu, H.; Wei, L.; Zhou, K.; Qin, H.; Qu, P.; Cao, W.; Liu, E. Effect of Dietetic Obesity on Testicular Transcriptome in Cynomolgus Monkeys. *Genes (Basel)* **2023**, 14 (3), 557. <https://doi.org/10.3390/genes14030557>.
- (9) Matos, F. *Infertilidade: como enfrentar o diagnóstico e buscar o tratamento adequado*. <https://sbra.com.br/noticias/infertilidade-como-enfrentar-o-diagnostico-e-buscar-o-tratamento-adequado/> (accessed 2023-08-16).
- (10) Holland, W. L.; Brozinick, J. T.; Wang, L. P.; Hawkins, E. D.; Sargent, K. M.; Liu, Y.; Narra, K.; Hoehn, K. L.; Knotts, T. A.; Siesky, A.; Nelson, D. H.; Karathanasis, S. K.; Fontenot, G. K. K.; Birnbaum, M. J.; Summers, S. A. Inhibition of Ceramide Synthesis Ameliorates Glucocorticoid-, Saturated-Fat-, and Obesity-Induced Insulin Resistance. *Cell Metab* **2007**, 5 (3), 167–179. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.01.002>.
- (11) Tschiedel, B. *A História do Diabetes*. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia.
- (12) Nna, V. U.; Bakar, A. B. A.; Ahmad, A.; Mohamed, M. Diabetes-Induced Testicular Oxidative Stress, Inflammation, and Caspase-Dependent Apoptosis: The Protective Role of Metformin. *Arch Physiol Biochem* **2020**, 126 (5), 377–388. <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1543329>.
- (13) Yi, X.; Tang, D.; Cao, S.; Li, T.; Gao, H.; Ma, T.; Yao, T.; Li, J.; Chang, B. Effect of Different Exercise Loads on Testicular Oxidative Stress and Reproductive Function in Obese Male Mice. *Oxid Med Cell Longev* **2020**, 2020, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2020/3071658>.
- (14) Abdel-Fadeil, M. R.; Abd Allah, E. S. H.; Iraquy, H. M.; Elgamal, D. A.; Abdel-Ghani, M. A. Experimental Obesity and Diabetes Reduce Male Fertility: Potential Involvement of Hypothalamic Kiss-1, Pituitary Nitric Oxide, Serum Vaspın and Visfatin. *Pathophysiology* **2019**, 26 (3–4), 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2019.02.001>.
- (15) Zhong, O.; Ji, L.; Wang, J.; Lei, X.; Huang, H. Association of Diabetes and Obesity with Sperm Parameters and Testosterone Levels: A Meta-Analysis. *Diabetol Metab Syndr* **2021**, 13 (1), 109. <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00728-2>.
- (16) Barsiah, S.; Behnam-Rassouli, M.; Shahabipour, F.; Rostami, S.; Sabbaghi, M. A.; Momeni, Z.; Tavassoli, A.; Sahebkar, A. Evaluation of Testis Hormonal and

- 799 Histopathological Alterations in Type I and Type II Diabetic Rats. *J Cell Biochem* **2019**,
800 *120* (10), 16775–16785. <https://doi.org/10.1002/jcb.28936>.
- 801 (17) Grossmann, M. Hypogonadism and Male Obesity: Focus on Unresolved
802 Questions. *Clin Endocrinol (Oxf)* **2018**, *89* (1), 11–21. <https://doi.org/10.1111/cen.13723>.
- 803 (18) Khalil, A. S. M.; Giribabu, N.; Yelumalai, S.; Shahzad, H.; Kilari, E. K.; Salleh,
804 N. Myristic Acid Defends against Testicular Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis:
805 Restoration of Spermatogenesis, Steroidogenesis in Diabetic Rats. *Life Sci* **2021**, *278*,
806 119605. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119605>.
- 807 (19) Suleiman, J. B.; Nna, V. U.; Zakaria, Z.; Othman, Z. A.; Bakar, A. B. A.;
808 Mohamed, M. Obesity-Induced Testicular Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis:
809 Protective and Therapeutic Effects of Orlistat. *Reproductive Toxicology* **2020**, *95*, 113–
810 122. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.05.009>.
- 811 (20) Sengupta, P.; Dutta, S.; Karkada, I. R.; Chinni, S. V. Endocrinopathies and Male
812 Infertility. *Life* **2021**, *12* (1), 10. <https://doi.org/10.3390/life12010010>.
- 813 (21) Uzun, H.; Huner, M.; Kivrak, M.; Zengin, E.; Ozsagir, Y. Ö.; Sönmez, B.; Akça,
814 G. The Relationship between Anthropometric and Metabolic Risk Factors and Testicular
815 Function in Healthy Young Men. *Clin Exp Reprod Med* **2024**, *51* (1), 48–56.
816 <https://doi.org/10.5653/cerm.2023.06114>.
- 817 (22) AbbasiHormozi, S.; Kouhkan, A.; Shahverdi, A.; Parikar, A.; Shirin, A.; Vesali, S.
818 How Much Obesity and Diabetes Do Impair Male Fertility? *Reproductive Biology and*
819 *Endocrinology* **2023**, *21* (1), 48. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-01034-w>.
- 820 (23) Barsiah, S.; Behnam-Rassouli, M.; Shahabipour, F.; Rostami, S.; Sabbaghi, M. A.;
821 Momeni, Z.; Tavassoli, A.; Sahebkar, A. Evaluation of Testis Hormonal and
822 Histopathological Alterations in Type I and Type II Diabetic Rats. *J Cell Biochem* **2019**,
823 *120* (10), 16775–16785. <https://doi.org/10.1002/jcb.28936>.
- 824 (24) Carvalho, M. G.; Silva, K. M.; Aristizabal, V. H. V.; Ortiz, P. E. O.; Paranzini, C.
825 S.; Melchert, A.; Amaro, J. L.; Souza, F. F. Effects of Obesity and Diabetes on Sperm Cell
826 Proteomics in Rats. *J Proteome Res* **2021**, *20* (5), 2628–2642.
827 <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c01044>.
- 828 (25) Peach, M.; Marsh, N.; MacPhee, D. J. Protein Solubilization: Attend to the Choice
829 of Lysis Buffer. In *Methods in Molecular Biology*; Totowa, 2012; Vol. 869, pp 37–47.
830 https://doi.org/10.1007/978-1-61779-821-4_4.

- 831 (26) Souza, F.; Chirinéa, V.; Martins, M.; Lopes, M. Osteopontin in Seminal Plasma
832 and Sperm Membrane of Dogs. *Reproduction in Domestic Animals* **2009**, *44*, 283–286.
833 <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01447.x>.
- 834 (27) Baker, S. S.; Cardullo, R. A.; Thaler, C. D. Sonication of Mouse Sperm
835 Membranes Reveals Distinct Protein Domains1. *Biol Reprod* **2002**, *66* (1), 57–64.
836 <https://doi.org/10.1095/biolreprod66.1.57>.
- 837 (28) Neuhoﬀ, V.; Stamm, R.; Eibl, H. Clear Background and Highly Sensitive Protein
838 Staining with Coomassie Blue Dyes in Polyacrylamide Gels: A Systematic Analysis.
839 *Electrophoresis* **1985**, *6* (9), 427–448. <https://doi.org/10.1002/elps.1150060905>.
- 840 (29) Luo, S.; Wehr, N. B.; Levine, R. L. Quantitation of Protein on Gels and Blots by
841 Infrared Fluorescence of Coomassie Blue and Fast Green. *Anal Biochem* **2006**, *350* (2),
842 233–238. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.10.048>.
- 843 (30) Shevchenko, A.; Tomas, H.; Havli, J.; Olsen, J. V.; Mann, M. In-Gel Digestion for
844 Mass Spectrometric Characterization of Proteins and Proteomes. *Nat Protoc* **2006**, *1* (6),
845 2856–2860. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.468>.
- 846 (31) He, L.; Diedrich, J.; Chu, Y.-Y.; Yates, J. R. Extracting Accurate Precursor
847 Information for Tandem Mass Spectra by RawConverter. *Anal Chem* **2015**, *87* (22),
848 11361–11367. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b02721>.
- 849 (32) Xia, J.; Wishart, D. S. Using MetaboAnalyst 3.0 for Comprehensive
850 Metabolomics Data Analysis. *Curr Protoc Bioinformatics* **2016**, *55* (1).
851 <https://doi.org/10.1002/cpbi.11>.
- 852 (33) Nna, V. U.; Bakar, A. B. A.; Ahmad, A.; Mohamed, M. Diabetes-Induced
853 Testicular Oxidative Stress, Inflammation, and Caspase-Dependent Apoptosis: The
854 Protective Role of Metformin. *Arch Physiol Biochem* **2020**, *126* (5), 377–388.
855 <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1543329>.
- 856 (34) Falvo, S.; Minucci, S.; Santillo, A.; Senese, R.; Chieffi Baccari, G.; Venditti, M.
857 A Short-Term High-Fat Diet Alters Rat Testicular Activity and Blood-Testis Barrier
858 Integrity through the SIRT1/NRF2/MAPKs Signaling Pathways. *Front Endocrinol*
859 *(Lausanne)* **2023**, *14*. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1274035>.
- 860 (35) Saveanu, C.; Namane, A.; Gleizes, P.-E.; Lebreton, A.; Rousselle, J.-C.; Noaillac-
861 Depeyre, J.; Gas, N.; Jacquier, A.; Fromont-Racine, M. Sequential Protein Association
862 with Nascent 60S Ribosomal Particles. *Mol Cell Biol* **2003**, *23* (13), 4449–4460.
863 <https://doi.org/10.1128/MCB.23.13.4449-4460.2003>.

- (36) Kargas, V.; Castro-Hartmann, P.; Escudero-Urquijo, N.; Dent, K.; Hilcenko, C.; Sailer, C.; Zisser, G.; Marques-Carvalho, M. J.; Pellegrino, S.; Wawiórka, L.; Freund, S. M.; Wagstaff, J. L.; Andreeva, A.; Faille, A.; Chen, E.; Stengel, F.; Bergler, H.; Warren, A. J. Mechanism of Completion of Peptidyltransferase Centre Assembly in Eukaryotes. *Elife* **2019**, *8*. <https://doi.org/10.7554/eLife.44904>.
- (37) Safo, M.; Moor, N.; Lavrik, O. *Phenylalanyl-tRNA Synthetases*. In: Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Austin (TX): Landes Bioscience. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6321/> (accessed 2024-03-12).
- (38) Bansal, S. K.; Gupta, N.; Sankhwar, S. N.; Rajender, S. Differential Genes Expression between Fertile and Infertile Spermatozoa Revealed by Transcriptome Analysis. *PLoS One* **2015**, *10* (5), e0127007. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127007>.
- (39) Dai, P.; Wang, X.; Gou, L.-T.; Li, Z.-T.; Wen, Z.; Chen, Z.-G.; Hua, M.-M.; Zhong, A.; Wang, L.; Su, H.; Wan, H.; Qian, K.; Liao, L.; Li, J.; Tian, B.; Li, D.; Fu, X.-D.; Shi, H.-J.; Zhou, Y.; Liu, M.-F. A Translation-Activating Function of MIWI/PiRNA during Mouse Spermiogenesis. *Cell* **2019**, *179* (7), 1566–1581.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.11.022>.
- (40) Lukkani, L. K.; Naorem, L. D.; Muthaiyan, M.; Venkatesan, A. Identification of Potential Key Genes Related to Idiopathic Male Infertility Using RNA-Sequencing Data: An *in-Silico* Approach. *Hum Fertil* **2023**, *26* (5), 1149–1163. <https://doi.org/10.1080/14647273.2022.2144771>.
- (41) Pini, T.; Haywood, M.; McCallie, B.; Lane, S. L.; Schoolcraft, W. B.; Katz-Jaffe, M. Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Reveals an Active Response to DNA Damage in Human Spermatozoa. *F S Sci* **2021**, *2* (2), 153–163. <https://doi.org/10.1016/j.xfss.2021.03.001>.
- (42) Rudra, D.; Warner, J. R. What Better Measure than Ribosome Synthesis?: Figure 1. *Genes Dev* **2004**, *18* (20), 2431–2436. <https://doi.org/10.1101/gad.1256704>.
- (43) Guneli, E.; Tugyan, K.; Ozturk, H.; Gumustekin, M.; Cilaker, S.; Uysal, N. Effect of Melatonin on Testicular Damage in Streptozotocin-Induced Diabetes Rats. *European Surgical Research* **2008**, *40* (4), 354–360. <https://doi.org/10.1159/000118032>.
- (44) Jarvis, S.; Gethings, L. A.; Samanta, L.; Pedroni, S. M. A.; Withers, D. J.; Gray, N.; Plumb, R. S.; Winston, R. M. L.; Williamson, C.; Bevan, C. L. High Fat Diet Causes Distinct Aberrations in the Testicular Proteome. *Int J Obes* **2020**, *44* (9), 1958–1969. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-0595-6>.

- 898 (45) SCHLATT, S.; WEINBAUER, G. F.; ARSLAN, M.; NIESCHLAG, E.
 899 Appearance of A-Smooth Muscle Actin in Peritubular Cells of Monkey Testes Is Induced
 900 by Androgens, Modulated by Follicle-Stimulating Hormone, and Maintained after
 901 Hormonal Withdrawal. *J Androl* **1993**, *14* (5), 340–350. [https://doi.org/10.1002/j.1939-](https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.1993.tb00397.x)
 902 4640.1993.tb00397.x.
- 903 (46) Van Saen, D.; Vloeberghs, V.; Gies, I.; De Schepper, J.; Tournaye, H.; Goossens,
 904 E. Characterization of the Stem Cell Niche Components within the Seminiferous Tubules
 905 in Testicular Biopsies of Klinefelter Patients. *Fertil Steril* **2020**, *113* (6), 1183–1195.e3.
 906 <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.01.018>.
- 907 (47) Welter, H.; Herrmann, C.; Dellweg, N.; Missel, A.; Thanisch, C.; Urbanski, H. F.;
 908 Köhn, F.-M.; Schwarzer, J. U.; Müller-Taubenberger, A.; Mayerhofer, A. The
 909 Glucocorticoid Receptor NR3C1 in Testicular Peritubular Cells Is Developmentally
 910 Regulated and Linked to the Smooth Muscle-Like Cellular Phenotype. *J Clin Med* **2020**,
 911 *9* (4), 961. <https://doi.org/10.3390/jcm9040961>.
- 912 (48) Paduch, D. A.; Hilz, S.; Grimson, A.; Schlegel, P. N.; Jedlicka, A. E.; Wright, W.
 913 W. Aberrant Gene Expression by Sertoli Cells in Infertile Men with Sertoli Cell-Only
 914 Syndrome. *PLoS One* **2019**, *14* (5), e0216586.
 915 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216586>.
- 916 (49) Aldahhan, R. A.; Stanton, P. G.; Ludlow, H.; de Kretser, D. M.; Hedger, M. P.
 917 Experimental Cryptorchidism Causes Chronic Inflammation and a Progressive Decline
 918 in Sertoli Cell and Leydig Cell Function in the Adult Rat Testis. *Reproductive Sciences*
 919 **2021**, *28* (10), 2916–2928. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00616-0>.
- 920 (50) Tarleton, G. W.; Gondos, B.; Formby, B. Testicular Alterations in the Nonobese
 921 Diabetic Mouse. *Endocr Pathol* **1990**, *1* (2), 85–93. <https://doi.org/10.1007/BF02915623>.
- 922 (51) Aoyama, C.; Nakashima, K.; Ishidate, K. Molecular Cloning of Mouse Choline
 923 Kinase and Choline/Ethanolamine Kinase: Their Sequence Comparison to the Respective
 924 Rat Homologs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*
 925 **1998**, *1393* (1), 179–185. [https://doi.org/10.1016/S0005-2760\(98\)00062-9](https://doi.org/10.1016/S0005-2760(98)00062-9).
- 926 (52) Hsia, K.-T.; Millar, M. R.; King, S.; Selfridge, J.; Redhead, N. J.; Melton, D. W.;
 927 Saunders, P. T. K. DNA Repair Gene *Ercc1* Is Essential for Normal Spermatogenesis and
 928 Oogenesis and for Functional Integrity of Germ Cell DNA in the Mouse. *Development*
 929 **2003**, *130* (2), 369–378. <https://doi.org/10.1242/dev.00221>.
- 930 (53) Kon, S.; Minegishi, N.; Tanabe, K.; Watanabe, T.; Funaki, T.; Wong, W. F.;
 931 Sakamoto, D.; Higuchi, Y.; Kiyonari, H.; Asano, K.; Iwakura, Y.; Fukumoto, M.; Osato,

- 932 M.; Sanada, M.; Ogawa, S.; Nakamura, T.; Satake, M. Smap1 Deficiency Perturbs
933 Receptor Trafficking and Predisposes Mice to Myelodysplasia. *Journal of Clinical*
934 *Investigation* **2013**, *123* (3), 1123–1137. <https://doi.org/10.1172/JCI63711>.
- 935 (54) Tanabe, K.; Torii, T.; Natsume, W.; Braesch-Andersen, S.; Watanabe, T.; Satake,
936 M. A Novel GTPase-Activating Protein for ARF6 Directly Interacts with Clathrin and
937 Regulates Clathrin-Dependent Endocytosis. *Mol Biol Cell* **2005**, *16* (4), 1617–1628.
938 <https://doi.org/10.1091/mbc.e04-08-0683>.
- 939 (55) Feugang, J. M.; Rodriguez-Osorio, N.; Kaya, A.; Wang, H.; Page, G.; Ostermeier,
940 G. C.; Topper, E. K.; Memili, E. Transcriptome Analysis of Bull Spermatozoa:
941 Implications for Male Fertility. *Reprod Biomed Online* **2010**, *21* (3), 312–324.
942 <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.06.022>.
- 943 (56) Qian, Y.; Ng, C. L.; Schulz, C. CSN Maintains the Germline Cellular
944 Microenvironment and Controls the Level of Stem Cell Genes via Distinct CRLs in Testes
945 of *Drosophila Melanogaster*. *Dev Biol* **2015**, *398* (1), 68–79.
946 <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.11.014>.
- 947 (57) Han, Y.; Liang, C.; Yu, Y.; Manthari, R. K.; Cheng, C.; Tan, Y.; Li, X.; Tian, X.;
948 Fu, W.; Yang, J.; Yang, W.; Xing, Y.; Wang, J.; Zhang, J. Chronic Arsenic Exposure
949 Lowered Sperm Motility via Impairing Ultra-Microstructure and Key Proteins
950 Expressions of Sperm Acrosome and Flagellum Formation during Spermiogenesis in
951 Male Mice. *Science of The Total Environment* **2020**, *734*, 139233.
952 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139233>.
- 953 (58) Funaki, T.; Kon, S.; Tanabe, K.; Natsume, W.; Sato, S.; Shimizu, T.; Yoshida, N.;
954 Wong, W. F.; Ogura, A.; Ogawa, T.; Inoue, K.; Ogonuki, N.; Miki, H.; Mochida, K.;
955 Endoh, K.; Yomogida, K.; Fukumoto, M.; Horai, R.; Iwakura, Y.; Ito, C.; Toshimori, K.;
956 Watanabe, T.; Satake, M. The Arf GAP SMAP2 Is Necessary for Organized Vesicle
957 Budding from the *Trans* -Golgi Network and Subsequent Acrosome Formation in
958 Spermiogenesis. *Mol Biol Cell* **2013**, *24* (17), 2633–2644.
959 <https://doi.org/10.1091/mbc.e13-05-0234>.
- 960 (59) Chen, Y.; Gu, X.; Zhou, X. E.; Wang, W.; Cheng, D.; Ge, Y.; Ye, F.; Xu, H. E.; Lv,
961 Z. Crystal Structure of TBC1D15 GTPase-activating Protein (GAP) Domain and Its
962 Activity on Rab GTPases. *Protein Science* **2017**, *26* (4), 834–846.
963 <https://doi.org/10.1002/pro.3132>.
- 964 (60) Shimada, K.; Park, S.; Miyata, H.; Yu, Z.; Morohoshi, A.; Oura, S.; Matzuk, M.
965 M.; Ikawa, M. ARMC12 Regulates Spatiotemporal Mitochondrial Dynamics during

- 966 Spermiogenesis and Is Required for Male Fertility. *Proceedings of the National Academy*
 967 *of Sciences* **2021**, *118* (6). <https://doi.org/10.1073/pnas.2018355118>.
- 968 (61) Onoue, K.; Jofuku, A.; Ban-Ishihara, R.; Ishihara, T.; Maeda, M.; Koshiba, T.;
 969 Itoh, T.; Fukuda, M.; Otera, H.; Oka, T.; Takano, H.; Mizushima, N.; Mihara, K.; Ishihara,
 970 N. Fis1 Acts as a Mitochondrial Recruitment Factor for TBC1D15 That Is Involved in
 971 Regulation of Mitochondrial Morphology. *J Cell Sci* **2013**, *126* (1), 176–185.
 972 <https://doi.org/10.1242/jcs.111211>.
- 973 (62) Munyoki, S.; Shami, A. N.; Zheng, X.; Ma, Q.; Sukhwani, M.; Hammoud, S.; Li,
 974 J. Z.; Orwig, K. SINGLE CELL TRANSCRIPTOME ANALYSIS IDENTIFIES
 975 PUTATIVE CELL SURFACE MARKERS OF HUMAN SPERMATOGONIAL STEM
 976 CELLS. *Fertil Steril* **2020**, *114* (3), e100–e101.
 977 <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.08.305>.
- 978 (63) Zou, Q.; Yang, L.; Shi, R.; Qi, Y.; Zhang, X.; Qi, H. Proteostasis Regulated by
 979 Testis-Specific Ribosomal Protein RPL39L Maintains Mouse Spermatogenesis. *iScience*
 980 **2021**, *24* (12), 103396. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103396>.
- 981 (64) Wu, C.-H.; Zong, Q.; Du, A.-L.; Zhang, W.; Yao, H.-C.; Yu, X.-Q.; Wang, Y.-F.
 982 Knockdown of Dynamitin in Testes Significantly Decreased Male Fertility in *Drosophila*
 983 *Melanogaster*. *Dev Biol* **2016**, *420* (1), 79–89.
 984 <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.10.007>.
- 985 (65) Ghosh-Roy, A.; Kulkarni, M.; Kumar, V.; Shirolkar, S.; Ray, K. Cytoplasmic
 986 Dynein–Dynactin Complex Is Required for Spermatid Growth but Not Axoneme
 987 Assembly in *Drosophila*. *Mol Biol Cell* **2004**, *15* (5), 2470–2483.
 988 <https://doi.org/10.1091/mbc.e03-11-0848>.
- 989 (66) Urnavicius, L.; Zhang, K.; Diamant, A. G.; Motz, C.; Schlager, M. A.; Yu, M.;
 990 Patel, N. A.; Robinson, C. V.; Carter, A. P. The Structure of the Dynactin Complex and
 991 Its Interaction with Dynein. *Science (1979)* **2015**, *347* (6229), 1441–1446.
 992 <https://doi.org/10.1126/science.aaa4080>.
- 993 (67) Lee, N. P. Y.; Mruk, D. D.; Conway, A. M.; Cheng, C. Y. Zyxin, Axin, and Wiskott-
 994 Aldrich Syndrome Protein Are Adaptors That Link the Cadherin/Catenin Protein
 995 Complex to the Cytoskeleton at Adherens Junctions in the Seminiferous Epithelium of
 996 the Rat Testis. *J Androl* **2004**, *25* (2), 200–215. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02780.x>.
- 998 (68) Oldknow, K. J.; Seebacher, J.; Goswami, T.; Villen, J.; Pitsillides, A. A.;
 999 O’Shaughnessy, P. J.; Gygi, S. P.; Schneyer, A. L.; Mukherjee, A. Follistatin-like 3

- 1000 (FSTL3) Mediated Silencing of Transforming Growth Factor β (TGF β) Signaling Is
 1001 Essential for Testicular Aging and Regulating Testis Size. *Endocrinology* **2013**, *154* (3),
 1002 1310–1320. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1886>.
- 1003 (69) Castellini, C.; Mattioli, S.; Moretti, E.; Cotozzolo, E.; Perini, F.; Dal Bosco, A.;
 1004 Signorini, C.; Noto, D.; Belmonte, G.; Lasagna, E.; Brecchia, G.; Collodel, G. Expression
 1005 of Genes and Localization of Enzymes Involved in Polyunsaturated Fatty Acid Synthesis
 1006 in Rabbit Testis and Epididymis. *Sci Rep* **2022**, *12* (1), 2637.
 1007 <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06700-y>.
- 1008 (70) Olia Bagheri, F.; Alizadeh, A.; Sadighi Gilani, M. A.; Shahhoseini, M. Role of
 1009 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) in the Regulation of Fatty
 1010 Acid Metabolism Related Gene Expressions in Testis of Men with Impaired
 1011 Spermatogenesis. *Reprod Biol* **2021**, *21* (4), 100543.
 1012 <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2021.100543>.
- 1013 (71) Varma, S.; Molangiri, A.; Kona, S. R.; Ibrahim, A.; Duttaroy, A. K.; Basak, S.
 1014 Fetal Exposure to Endocrine Disrupting-Bisphenol A (BPA) Alters Testicular Fatty Acid
 1015 Metabolism in the Adult Offspring: Relevance to Sperm Maturation and Quality. *Int J*
 1016 *Mol Sci* **2023**, *24* (4), 3769. <https://doi.org/10.3390/ijms24043769>.
- 1017 (72) Rato, L.; Alves, M. G.; Dias, T. R.; Lopes, G.; Cavaco, J. E.; Socorro, S.; Oliveira,
 1018 P. F. High-energy Diets May Induce a Pre-diabetic State Altering Testicular Glycolytic
 1019 Metabolic Profile and Male Reproductive Parameters. *Andrology* **2013**, *1* (3), 495–504.
 1020 <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00071.x>.
- 1021 (73) Laurentino, S. S.; Correia, S.; Cavaco, J. E.; Oliveira, P. F.; Sousa, M. d.; Barros,
 1022 A.; Socorro, S. Regucalcin, a Calcium-Binding Protein with a Role in Male
 1023 Reproduction? *Mol Hum Reprod* **2012**, *18* (4), 161–170.
 1024 <https://doi.org/10.1093/molehr/gar075>.
- 1025 (74) Laurentino, S. S.; Correia, S.; Cavaco, J. E.; Oliveira, P. F.; Rato, L.; Sousa, M.;
 1026 Barros, A.; Socorro, S. Regucalcin Is Broadly Expressed in Male Reproductive Tissues
 1027 and Is a New Androgen-Target Gene in Mammalian Testis. *REPRODUCTION* **2011**, *142*
 1028 (3), 447–456. <https://doi.org/10.1530/REP-11-0085>.
- 1029 (75) Silva, A. M. S.; Socorro, S.; Hurtado de Llera, A.; Vaz, C. V.; Correia, S.; Maia,
 1030 C. J. Overexpression of Regucalcin Mitigates the Ageing-Related Changes in Oxidative
 1031 Stress and Sperm Quality. *Theriogenology* **2020**, *157*, 472–482.
 1032 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.08.028>.

- 1033 (76) Silva, A. M. S.; Correia, S.; Casalta-Lopes, J. E.; Mamede, A. C.; Cavaco, J. E.
 1034 B.; Botelho, M. F.; Socorro, S.; Maia, C. J. The Protective Effect of Regucalcin against
 1035 Radiation-Induced Damage in Testicular Cells. *Life Sci* **2016**, *164*, 31–41.
 1036 <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.09.003>.
- 1037 (77) Lee, S.-R.; Kim, J.-R.; Kwon, K.-S.; Yoon, H. W.; Levine, R. L.; Ginsburg, A.;
 1038 Rhee, S. G. Molecular Cloning and Characterization of a Mitochondrial Selenocysteine-
 1039 Containing Thioredoxin Reductase from Rat Liver. *Journal of Biological Chemistry*
 1040 **1999**, *274* (8), 4722–4734. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.8.4722>.
- 1041 (78) Munro, D.; Banh, S.; Sotiri, E.; Tamanna, N.; Treberg, J. R. The Thioredoxin and
 1042 Glutathione-Dependent H₂O₂ Consumption Pathways in Muscle Mitochondria:
 1043 Involvement in H₂O₂ Metabolism and Consequence to H₂O₂ Efflux Assays. *Free Radic*
 1044 *Biol Med* **2016**, *96*, 334–346. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.014>.
- 1045 (79) Matschinsky, F. M. A Lesson in Metabolic Regulation Inspired by the Glucokinase
 1046 Glucose Sensor Paradigm Franz. *Diabetes* **1996**, *45*, 223–241.
- 1047 (80) Perales, M. A.; Sener, A.; Malaisse, W. J. Hexose Metabolism in Pancreatic Islets:
 1048 The Glucose-6-Phosphatase Riddle. *Mol Cell Biochem* **1991**, *101* (1), 67–71.
 1049 <https://doi.org/10.1007/BF00238439>.
- 1050 (81) Prentki, M.; Corkey, B. E. Are the ??-Cell Signaling Molecules Malonyl-CoA and
 1051 Cytosolic Long-Chain Acyl-CoA Implicated in Multiple Tissue Defects of Obesity and
 1052 NIDDM? *Diabetes* **1996**, *45* (3), 273–283.
- 1053 (82) Nagpal, B. L.; Manjari, M.; Kapoor, K.; Dhaliwal, U. S. Testicular Biopsy in Cases
 1054 of Male Infertility: A Retrospective Study. *J Indian Med Assoc* **1993**, *91* (7), 171–174.
- 1055 (83) Fang, X.; Qin, L.; Yu, H.; Jiang, P.; Xia, L.; Gao, Z.; Yang, R.; Zhao, Y.; Yu, X.;
 1056 Zhao, Z. Comprehensive Analysis of MiRNAs and Target MRNAs between Immature
 1057 and Mature Testis Tissue in Chinese Red Steppes Cattle. *Animals* **2021**, *11* (11), 3024.
 1058 <https://doi.org/10.3390/ani11113024>.
- 1059 (84) Zhao, L.; Yao, C.; Xing, X.; Jing, T.; Li, P.; Zhu, Z.; Yang, C.; Zhai, J.; Tian, R.;
 1060 Chen, H.; Luo, J.; Liu, N.; Deng, Z.; Lin, X.; Li, N.; Fang, J.; Sun, J.; Wang, C.; Zhou,
 1061 Z.; Li, Z. Single-Cell Analysis of Developing and Azoospermia Human Testicles Reveals
 1062 Central Role of Sertoli Cells. *Nat Commun* **2020**, *11* (1), 5683.
 1063 <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19414-4>.
- 1064 (85) Lin, Y.-N.; Roy, A.; Yan, W.; Burns, K. H.; Matzuk, M. M. Loss of Zona Pellucida
 1065 Binding Proteins in the Acrosomal Matrix Disrupts Acrosome Biogenesis and Sperm

- 1066 Morphogenesis. *Mol Cell Biol* **2007**, 27 (19), 6794–6805.
 1067 <https://doi.org/10.1128/MCB.01029-07>.
- 1068 (86) Dun, M. D.; Smith, N. D.; Baker, M. A.; Lin, M.; Aitken, R. J.; Nixon, B. The
 1069 Chaperonin Containing TCP1 Complex (CCT/TRiC) Is Involved in Mediating Sperm-
 1070 Oocyte Interaction. *Journal of Biological Chemistry* **2011**, 286 (42), 36875–36887.
 1071 <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.188888>.
- 1072 (87) Odet, F.; Verot, A.; Le Magueresse-Battistoni, B. The Mouse Testis Is the Source
 1073 of Various Serine Proteases and Serine Proteinase Inhibitors (SERPINs): Serine Proteases
 1074 and SERPINs Identified in Leydig Cells Are under Gonadotropin Regulation.
 1075 *Endocrinology* **2006**, 147 (9), 4374–4383. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0484>.
- 1076 (88) Yang, H.; Wahlmüller, F. C.; Uhrin, P.; Baumgartner, R.; Mitulovic, G.; Sarg, B.;
 1077 Geiger, M.; Zellner, M. Proteome Analysis of Testis from Infertile Protein C Inhibitor-
 1078 deficient Mice Reveals Novel Changes in Serpin Processing and Prostaglandin
 1079 Metabolism. *Electrophoresis* **2015**, 36 (21–22), 2837–2840.
 1080 <https://doi.org/10.1002/elps.201500218>.
- 1081 (89) Selvam; Agarwal; Pushparaj; Baskaran; Bendou. Sperm Proteome Analysis and
 1082 Identification of Fertility-Associated Biomarkers in Unexplained Male Infertility. *Genes*
 1083 *(Basel)* **2019**, 10 (7), 522. <https://doi.org/10.3390/genes10070522>.
- 1084 (90) Rockenbach, M. K.; Fraga, L. R.; Kowalski, T. W.; Sanseverino, M. T. V.
 1085 Expression Profiles of Meiotic Genes in Male vs. Female Gonads and Gametes: Insights
 1086 into Fertility Issues. *Front Genet* **2023**, 14. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1125097>.
- 1087 (91) Grande, G.; Barrachina, F.; Soler-Ventura, A.; Jodar, M.; Mancini, F.; Marana, R.;
 1088 Chiloïro, S.; Pontecorvi, A.; Oliva, R.; Milardi, D. The Role of Testosterone in
 1089 Spermatogenesis: Lessons From Proteome Profiling of Human Spermatozoa in
 1090 Testosterone Deficiency. *Front Endocrinol (Lausanne)* **2022**, 13.
 1091 <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.852661>.
- 1092 (92) Ghanami Gashti, N.; Sadighi Gilani, M. A.; Jabari, A.; Qasemi, M.; Feizollahi, N.;
 1093 Abbasi, M. The Germ Cell-Specific Markers ZPBP2 and PGK2 in Testicular Biopsies
 1094 Can Predict the Presence as Well as the Quality of Sperm in Non-Obstructive
 1095 Azoospermia Patients. *Reproductive Sciences* **2021**, 28 (5), 1466–1475.
 1096 <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00427-9>.
- 1097 (93) Bleil, J. D.; Greve, J. M.; Wassarman, P. M. Identification of a Secondary Sperm
 1098 Receptor in the Mouse Egg Zona Pellucida: Role in Maintenance of Binding of

- 1099 Acrosome-Reacted Sperm to Eggs. *Dev Biol* **1988**, 128 (2), 376–385.
 1100 [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(88\)90299-0](https://doi.org/10.1016/0012-1606(88)90299-0).
- 1101 (94) Guerra, B.; Siemer, S.; Boldyreff, B.; Issinger, O.-G. Protein Kinase CK2:
 1102 Evidence for a Protein Kinase CK2 β Subunit Fraction, Devoid of the Catalytic CK2 α
 1103 Subunit, in Mouse Brain and Testicles. *FEBS Lett* **1999**, 462 (3), 353–357.
 1104 [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)01553-7](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)01553-7).
- 1105 (95) Bai, X.; Silvius, D.; Chan, E. D.; Escalier, D.; Xu, S. X. Identification and
 1106 Characterization of a Novel Testis-Specific Gene CKT2 , Which Encodes a Substrate for
 1107 Protein Kinase CK2. *Nucleic Acids Res* **2009**, 37 (8), 2699–2711.
 1108 <https://doi.org/10.1093/nar/gkp094>.
- 1109 (96) Escalier, D.; Silvius, D.; Xu, X. Spermatogenesis of Mice Lacking CK2 α' : Failure
 1110 of Germ Cell Survival and Characteristic Modifications of the Spermatid Nucleus. *Mol*
 1111 *Reprod Dev* **2003**, 66 (2), 190–201. <https://doi.org/10.1002/mrd.10346>.
- 1112 (97) Amorim, I. S.; Graham, L. C.; Carter, R. N.; Morton, N. M.; Hammachi, F.;
 1113 Kunath, T.; Pennetta, G.; Carpanini, S. M.; Manson, J. C.; Lamont, D. J.; Wishart, T. M.;
 1114 Gillingwater, T. H. Sideroflexin 3 Is a α -Synuclein-Dependent Mitochondrial Protein
 1115 That Regulates Synaptic Morphology. *J Cell Sci* **2017**.
 1116 <https://doi.org/10.1242/jcs.194241>.
- 1117 (98) Kory, N.; Wyant, G. A.; Prakash, G.; uit de Bos, J.; Bottanelli, F.; Pacold, M. E.;
 1118 Chan, S. H.; Lewis, C. A.; Wang, T.; Keys, H. R.; Guo, Y. E.; Sabatini, D. M. SFXN1 Is
 1119 a Mitochondrial Serine Transporter Required for One-Carbon Metabolism. *Science*
 1120 (1979) **2018**, 362 (6416). <https://doi.org/10.1126/science.aat9528>.
- 1121 (99) Hiltunen, J. K.; Chen, Z.; Haapalainen, A. M.; Wierenga, R. K.; Kastaniotis, A. J.
 1122 Mitochondrial Fatty Acid Synthesis – An Adopted Set of Enzymes Making a Pathway of
 1123 Major Importance for the Cellular Metabolism. *Prog Lipid Res* **2010**, 49 (1), 27–45.
 1124 <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2009.08.001>.
- 1125 (100) Chen, L.; Lafond, J.; Pelletier, R.-M. A Novel Technical Approach for the
 1126 Measurement of Individual ACAT-1 and ACAT-2 Enzymatic Activity in the Testis; 2009;
 1127 pp 169–177. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-009-0_10.
- 1128 (101) Oresti, G. M.; Ayuza Aresti, P. L.; Gigola, G.; Reyes, L. E.; Aveldaño, M. I.
 1129 Sequential Depletion of Rat Testicular Lipids with Long-Chain and Very Long-Chain
 1130 Polyenoic Fatty Acids after X-Ray-Induced Interruption of Spermatogenesis. *J Lipid Res*
 1131 **2010**, 51 (9), 2600–2610. <https://doi.org/10.1194/jlr.M006395>.

- 1132 (102) Shen, W.-J.; Cortez, Y.; Singh, A.; Chen, W.; Azhar, S.; Kraemer, F. B. Mice
 1133 Deficient in ER Protein Seipin Have Reduced Adrenal Cholesteryl Ester Lipid Droplet
 1134 Formation and Utilization. *J Lipid Res* **2022**, *63* (12), 100309.
 1135 <https://doi.org/10.1016/j.jlr.2022.100309>.
- 1136 (103) Oresti, G. M.; Ayuza Aresti, P. L.; Gigola, G.; Reyes, L. E.; Aveldaño, M. I.
 1137 Sequential Depletion of Rat Testicular Lipids with Long-Chain and Very Long-Chain
 1138 Polyenoic Fatty Acids after X-Ray-Induced Interruption of Spermatogenesis. *J Lipid Res*
 1139 **2010**, *51* (9), 2600–2610. <https://doi.org/10.1194/jlr.M006395>.
- 1140 (104) van de Wal, M. A. E.; Adjobo-Hermans, M. J. W.; Keijer, J.; Schirris, T. J. J.;
 1141 Homberg, J. R.; Wieckowski, M. R.; Grefte, S.; van Schothorst, E. M.; van Karnebeek,
 1142 C.; Quintana, A.; Koopman, W. J. H. *Ndufs4* Knockout Mouse Models of Leigh
 1143 Syndrome: Pathophysiology and Intervention. *Brain* **2022**, *145* (1), 45–63.
 1144 <https://doi.org/10.1093/brain/awab426>.
- 1145 (105) Galkin, A. S.; Grivennikova, V. G.; Vinogradov, A. D. $\rightarrow H^+ / 2e$ Stoichiometry in
 1146 NADH-quinone Reductase Reactions Catalyzed by Bovine Heart Submitochondrial
 1147 Particles. *FEBS Lett* **1999**, *451* (2), 157–161. [https://doi.org/10.1016/S0014-](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00575-X)
 1148 [5793\(99\)00575-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00575-X).
- 1149 (106) Galkin, A.; Dröse, S.; Brandt, U. The Proton Pumping Stoichiometry of Purified
 1150 Mitochondrial Complex I Reconstituted into Proteoliposomes. *Biochimica et Biophysica*
 1151 *Acta (BBA) - Bioenergetics* **2006**, *1757* (12), 1575–1581.
 1152 <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.10.001>.
- 1153 (107) Wikström, M. Two Protons Are Pumped from the Mitochondrial Matrix per
 1154 Electron Transferred between NADH and Ubiquinone. *FEBS Lett* **1984**, *169* (2), 300–
 1155 304. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(84\)80338-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(84)80338-5).
- 1156 (108) Uhlén, M.; Fagerberg, L.; Hallström, B. M.; Lindskog, C.; Oksvold, P.;
 1157 Mardinoglu, A.; Sivertsson, Å.; Kampf, C.; Sjöstedt, E.; Asplund, A.; Olsson, I.; Edlund,
 1158 K.; Lundberg, E.; Navani, S.; Szigartyo, C. A.-K.; Odeberg, J.; Djureinovic, D.; Takanen,
 1159 J. O.; Hober, S.; Alm, T.; Edqvist, P.-H.; Berling, H.; Tegel, H.; Mulder, J.; Rockberg, J.;
 1160 Nilsson, P.; Schwenk, J. M.; Hamsten, M.; von Feilitzen, K.; Forsberg, M.; Persson, L.;
 1161 Johansson, F.; Zwahlen, M.; von Heijne, G.; Nielsen, J.; Pontén, F. Tissue-Based Map of
 1162 the Human Proteome. *Science (1979)* **2015**, *347* (6220).
 1163 <https://doi.org/10.1126/science.1260419>.

- 1164 (109) Song, Y.; Zhao, X.; Aihemaiti, A.; Haire, A.; Gao, Y.; Niu, C.; Yang, P.; Liu, G.;
 1165 Jia, G.; Wusiman, A. The Mechanism of Heat Stress Resistance During Spermatogenesis
 1166 in Turpan Black Sheep. *Front Vet Sci* **2022**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.846981>.
- 1167 (110) Yaeram, J.; Setchell, B. P.; Maddocks, S. Effect of Heat Stress on the Fertility of
 1168 Male Mice in Vivo and in Vitro. *Reprod Fertil Dev* **2006**, *18* (6), 647.
 1169 <https://doi.org/10.1071/RD05022>.
- 1170 (111) Yang, W.; Cui, H.; Chai, Z.; Zou, P.; Shi, F.; Yang, B.; Zhang, G.; Yang, H.; Chen,
 1171 Q.; Liu, J.; Cao, J.; Ling, X.; Ao, L. Benzo[a]Pyrene Inhibits Testosterone Biosynthesis
 1172 via NDUFA10-Mediated Mitochondrial Compromise in Mouse Leydig Cells: Integrating
 1173 Experimental and in Silico Toxicological Approaches. *Ecotoxicol Environ Saf* **2022**, *244*,
 1174 114075. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114075>.
- 1175 (112) Tang, Y.; Shi, L.; Wang, S.; Lu, H.; Li, H.; Lv, J.; Ge, R.; Ying, Y. Leydig Cell
 1176 Development in Pubertal Male Rats Is Blocked by Perfluorotetradecanoic Acid through
 1177 Decreasing AMPK-MTOR-Autophagy Pathway. *Toxicol Lett* **2023**, *383*, 43–53.
 1178 <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2023.05.012>.
- 1179 (113) Lee, H.; Kim, J.-H.; Chae, Y.-J.; Ogawa, H.; Lee, M.-H.; Gerton, G. L. Creatine
 1180 Synthesis and Transport Systems in the Male Rat Reproductive Tract¹. *Biol Reprod* **1998**,
 1181 *58* (6), 1437–1444. <https://doi.org/10.1095/biolreprod58.6.1437>.
- 1182 (114) Reichold, M.; Klootwijk, E. D.; Reinders, J.; Otto, E. A.; Milani, M.; Broeker, C.;
 1183 Laing, C.; Wiesner, J.; Devi, S.; Zhou, W.; Schmitt, R.; Tegtmeier, I.; Sterner, C.;
 1184 Doellerer, H.; Renner, K.; Oefner, P. J.; Dettmer, K.; Simbuerger, J. M.; Witzgall, R.;
 1185 Stanescu, H. C.; Dumitriu, S.; Iancu, D.; Patel, V.; Mozere, M.; Tekman, M.;
 1186 Jaureguierry, G.; Issler, N.; Kesselheim, A.; Walsh, S. B.; Gale, D. P.; Howie, A. J.;
 1187 Martins, J. R.; Hall, A. M.; Kasgharian, M.; O'Brien, K.; Ferreira, C. R.; Atwal, P. S.;
 1188 Jain, M.; Hammers, A.; Charles-Edwards, G.; Choe, C.-U.; Isbrandt, D.; Cebrian-Serrano,
 1189 A.; Davies, B.; Sandford, R. N.; Pugh, C.; Konecki, D. S.; Povey, S.; Bockenhauer, D.;
 1190 Lichter-Konecki, U.; Gahl, W. A.; Unwin, R. J.; Warth, R.; Kleta, R. Glycine
 1191 Amidinotransferase (GATM), Renal Fanconi Syndrome, and Kidney Failure. *Journal of*
 1192 *the American Society of Nephrology* **2018**, *29* (7), 1849–1858.
 1193 <https://doi.org/10.1681/ASN.2017111179>.
- 1194 (115) Sawaya, R.; Kuribayashi, S.; Ueda, J.; Saito, S. Evaluating the Cisplatin Dose
 1195 Dependence of Testicular Dysfunction Using Creatine Chemical Exchange Saturation
 1196 Transfer Imaging. *Diagnostics* **2022**, *12* (5), 1046.
 1197 <https://doi.org/10.3390/diagnostics12051046>.

- 1198 (116) Kuribayashi, S.; Fukuhara, S.; Tsujimura, G.; Imanaka, T.; Okada, K.; Ueda, N.;
 1199 Takezawa, K.; Kiuchi, H.; Saito, S.; Takahashi, Y.; Kioka, H.; Oura, S.; Shimada, K.;
 1200 Ikawa, M.; Nonomura, N. Evaluation of the Efficacy of Creatine Chemical Exchange
 1201 Saturation Transfer Imaging in Assessing Testicular Maturity. *Reprod Med Biol* **2023**, 22
 1202 (1). <https://doi.org/10.1002/rmb2.12507>.
- 1203 (117) Walker, W. H. Non-Classical Actions of Testosterone and Spermatogenesis.
 1204 *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **2010**, 365 (1546),
 1205 1557–1569. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0258>.
- 1206 (118) Smith, L. B.; Walker, W. H. The Regulation of Spermatogenesis by Androgens.
 1207 *Semin Cell Dev Biol* **2014**, 30, 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.02.012>.
- 1208 (119) Zhang, J.; Liu, J.; Ren, L.; Wei, J.; Duan, J.; Zhang, L.; Zhou, X.; Sun, Z. PM2.5
 1209 Induces Male Reproductive Toxicity via Mitochondrial Dysfunction, DNA Damage and
 1210 RIPK1 Mediated Apoptotic Signaling Pathway. *Science of The Total Environment* **2018**,
 1211 634, 1435–1444. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.383>.
- 1212 (120) Zhang, J.; Bao, X.; Zhang, M.; Zhu, Z.; Zhou, L.; Chen, Q.; Zhang, Q.; Ma, B.
 1213 MitoQ Ameliorates Testis Injury from Oxidative Attack by Repairing Mitochondria and
 1214 Promoting the Keap1-Nrf2 Pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* **2019**, 370, 78–92.
 1215 <https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.03.001>.
- 1216 (121) Yan, W.; Mu, Y.; Yu, N.; Yi, T.; Zhang, Y.; Pang, X.; Cheng, D.; Yang, J. Protective
 1217 Effects of Metformin on Reproductive Function in Obese Male Rats Induced by High-
 1218 Fat Diet. *J Assist Reprod Genet* **2015**, 32 (7), 1097–1104. [https://doi.org/10.1007/s10815-](https://doi.org/10.1007/s10815-015-0506-2)
 1219 015-0506-2.
- 1220 (122) Kianifard, D.; Sadrkhanlou, R. A.; Hasanzadeh, S. The Ultrastructural Changes of
 1221 the Sertoli and Leydig Cells Following Streptozotocin Induced Diabetes. *Iran J Basic*
 1222 *Med Sci* **2012**, 15 (1), 623–635.
- 1223 (123) Zhao, C.; Liu, X.; Liu, L.; Li, J.; Liu, X.; Tao, W.; Wang, D.; Wei, J. Smoothed
 1224 Mediates Medaka Spermatogonia Proliferation via Gli1–Rgcc–Cdk1 Axis. *Biol Reprod*
 1225 **2023**, 109 (5), 772–784. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioad090>.
- 1226 (124) Clement, T. M.; Inselman, A. L.; Goulding, E. H.; Willis, W. D.; Eddy, E. M.
 1227 Disrupting Cyclin Dependent Kinase 1 in Spermatocytes Causes Late Meiotic Arrest and
 1228 Infertility in Mice. *Biol Reprod* **2015**, 93 (6).
 1229 <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.134940>.

- 1230 (125) López-Fernández, L. A.; Párraga, M.; del Mazo, J. Ilf2 Is Regulated during
1231 Meiosis and Associated to Transcriptionally Active Chromatin. *Mech Dev* **2002**, *111* (1–
1232 2), 153–157. [https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(01\)00612-8](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(01)00612-8).
- 1233 (126) Suárez, R.; Chapela, S. P.; Álvarez-Córdova, L.; Bautista-Valarezo, E.; Sarmiento-
1234 Andrade, Y.; Verde, L.; Frias-Toral, E.; Sarno, G. Epigenetics in Obesity and Diabetes
1235 Mellitus: New Insights. *Nutrients* **2023**, *15* (4), 811. <https://doi.org/10.3390/nu15040811>.
- 1236 (127) Guan, T.; Kehlenbach, R. H.; Schirmer, E. C.; Kehlenbach, A.; Fan, F.; Clurman,
1237 B. E.; Arnheim, N.; Gerace, L. Nup50, a Nucleoplasmically Oriented Nucleoporin with a
1238 Role in Nuclear Protein Export. *Mol Cell Biol* **2000**, *20* (15), 5619–5630.
1239 <https://doi.org/10.1128/MCB.20.15.5619-5630.2000>.
- 1240 (128) Katsani, K. R.; Irimia, M.; Karapiperis, C.; Scouras, Z. G.; Blencowe, B. J.;
1241 Promponas, V. J.; Ouzounis, C. A. Functional Genomics Evidence Unearths New
1242 Moonlighting Roles of Outer Ring Coat Nucleoporins. *Sci Rep* **2014**, *4* (1), 4655.
1243 <https://doi.org/10.1038/srep04655>.
- 1244 (129) Bilokapic, S.; Schwartz, T. U. Molecular Basis for Nup37 and ELY5/ELYS
1245 Recruitment to the Nuclear Pore Complex. *Proceedings of the National Academy of*
1246 *Sciences* **2012**, *109* (38), 15241–15246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205151109>.
- 1247 (130) Whiley, P. A. F.; Miyamoto, Y.; McLachlan, R. I.; Jans, D. A.; Loveland, K. L.
1248 Changing Subcellular Localization of Nuclear Transport Factors during Human
1249 Spermatogenesis. *Int J Androl* **2012**, *35* (2), 158–169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2011.01202.x>.
- 1251 (131) Padavattan, S.; Thiruselvam, V.; Shinagawa, T.; Hasegawa, K.; Kumasaka, T.;
1252 Ishii, S.; Kumarevel, T. Structural Analyses of the Nucleosome Complexes with Human
1253 Testis-Specific Histone Variants, HTh2a and HTh2b. *Biophys Chem* **2017**, *221*, 41–48.
1254 <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2016.11.013>.
- 1255 (132) Patankar, A.; Gajbhiye, R.; Surve, S.; Parte, P. Epigenetic Landscape of Testis
1256 Specific Histone H2B Variant and Its Influence on Sperm Function. *Clin Epigenetics*
1257 **2021**, *13* (1), 101. <https://doi.org/10.1186/s13148-021-01088-4>.
- 1258 (133) Shinagawa, T.; Huynh, L. M.; Takagi, T.; Tsukamoto, D.; Tomaru, C.; Kwak, H.-
1259 G.; Dohmae, N.; Noguchi, J.; Ishii, S. Disruption of *Th2a* and *Th2b* Genes Causes Defects
1260 in Spermatogenesis. *Development* **2015**. <https://doi.org/10.1242/dev.121830>.
- 1261 (134) Guo, Z.; Karunatilaka, K. S.; Rueda, D. Single-Molecule Analysis of Protein-Free
1262 U2–U6 SnRNAs. *Nat Struct Mol Biol* **2009**, *16* (11), 1154–1159.
1263 <https://doi.org/10.1038/nsmb.1672>.

- 1264 (135) Bian, Y.; Ye, M.; Wang, C.; Cheng, K.; Song, C.; Dong, M.; Pan, Y.; Qin, H.; Zou,
1265 H. Global Screening of CK2 Kinase Substrates by an Integrated Phosphoproteomics
1266 Workflow. *Sci Rep* **2013**, *3* (1), 3460. <https://doi.org/10.1038/srep03460>.
- 1267 (136) Wu, R.; Zhan, J.; Zheng, B.; Chen, Z.; Li, J.; Li, C.; Liu, R.; Zhang, X.; Huang,
1268 X.; Luo, M. SYMPK Is Required for Meiosis and Involved in Alternative Splicing in
1269 Male Germ Cells. *Front Cell Dev Biol* **2021**, *9*.
1270 <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.715733>.
- 1271 (137) Alikhani, M.; Mirzaei, M.; Sabbaghian, M.; Parsamatin, P.; Karamzadeh, R.;
1272 Adib, S.; Sodeifi, N.; Gilani, M. A. S.; Zabet-Moghaddam, M.; Parker, L.; Wu, Y.; Gupta,
1273 V.; Haynes, P. A.; Gourabi, H.; Baharvand, H.; Salekdeh, G. H. Quantitative Proteomic
1274 Analysis of Human Testis Reveals System-Wide Molecular and Cellular Pathways
1275 Associated with Non-Obstructive Azoospermia. *J Proteomics* **2017**, *162*, 141–154.
1276 <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.02.007>.
- 1277 (138) Makarov, E. M.; Owen, N.; Bottrill, A.; Makarova, O. V. Functional Mammalian
1278 Spliceosomal Complex E Contains SMN Complex Proteins in Addition to U1 and U2
1279 SnRNPs. *Nucleic Acids Res* **2012**, *40* (6), 2639–2652.
1280 <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1056>.
- 1281 (139) Wu, H.; Sun, L.; Wen, Y.; Liu, Y.; Yu, J.; Mao, F.; Wang, Y.; Tong, C.; Guo, X.;
1282 Hu, Z.; Sha, J.; Liu, M.; Xia, L. Major Spliceosome Defects Cause Male Infertility and
1283 Are Associated with Nonobstructive Azoospermia in Humans. *Proceedings of the*
1284 *National Academy of Sciences* **2016**, *113* (15), 4134–4139.
1285 <https://doi.org/10.1073/pnas.1513682113>.
- 1286 (140) Herrero-Aguayo, V.; Jiménez-Vacas, J. M.; Sáez-Martínez, P.; Gómez-Gómez, E.;
1287 López-Cánovas, J. L.; Garrido-Sánchez, L.; Herrera-Martínez, A. D.; García-Bermejo,
1288 L.; Macías-González, M.; López-Miranda, J.; Castaño, J. P.; Gahete, M. D.; Luque, R. M.
1289 Influence of Obesity in the MiRNome: MiR-4454, a Key Regulator of Insulin Response
1290 Via Splicing Modulation in Prostate. *J Clin Endocrinol Metab* **2021**, *106* (2), e469–e484.
1291 <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa580>.
- 1292 (141) Robic, A.; Faraut, T.; Djebali, S.; Weikard, R.; Fève, K.; Maman, S.; Kuehn, C.
1293 Analysis of Pig Transcriptomes Suggests a Global Regulation Mechanism Enabling
1294 Temporary Bursts of Circular RNAs. *RNA Biol* **2019**, *16* (9), 1190–1204.
1295 <https://doi.org/10.1080/15476286.2019.1621621>.
- 1296 (142) Ge, P.; Zhang, J.; Zhou, L.; Lv, M.; Li, Y.; Wang, J.; Zhou, D. CircRNA Expression
1297 Profile and Functional Analysis in Testicular Tissue of Patients with Non-Obstructive

- 1298 Azoospermia. *Reproductive Biology and Endocrinology* **2019**, *17* (1), 100.
 1299 <https://doi.org/10.1186/s12958-019-0541-4>.
- 1300 (143) Singh, I.; Parte, P. Heterogeneity in the Epigenetic Landscape of Murine Testis-
 1301 Specific Histone Variants TH2A and TH2B Sharing the Same Bi-Directional Promoter.
 1302 *Front Cell Dev Biol* **2021**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.755751>.
- 1303 (144) Pereira, C. D.; Serrano, J. B.; Martins, F.; da Cruz e Silva, O. A. B.; Rebelo, S.
 1304 Nuclear Envelope Dynamics during Mammalian Spermatogenesis: New Insights on Male
 1305 Fertility. *Biological Reviews* **2019**, *94* (4), 1195–1219. <https://doi.org/10.1111/brv.12498>.
- 1306 (145) Elkhatib, R. A.; Paci, M.; Boissier, R.; Longepied, G.; Auguste, Y.; Achard, V.;
 1307 Bourgeois, P.; Levy, N.; Branger, N.; Mitchell, M. J.; Metzler-Guillemain, C. LEM-
 1308 Domain Proteins Are Lost during Human Spermiogenesis but BAF and BAF-L Persist.
 1309 *Reproduction* **2017**, *154* (4), 387–401. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0358>.
- 1310 (146) Alsheimer, M.; Fecher, E.; Benavente, R. Nuclear Envelope Remodelling during
 1311 Rat Spermiogenesis: Distribution and Expression Pattern of LAP2/Thymopoietins. *J Cell*
 1312 *Sci* **1998**, *111* (15), 2227–2234. <https://doi.org/10.1242/jcs.111.15.2227>.
- 1313 (147) Benavente, R.; Krohne, G. Involvement of Nuclear Lamins in Postmitotic
 1314 Reorganization of Chromatin as Demonstrated by Microinjection of Lamin Antibodies. *J*
 1315 *Cell Biol* **1986**, *103* (5), 1847–1854. <https://doi.org/10.1083/jcb.103.5.1847>.
- 1316 (148) Ganot, P.; Caizergues-Ferrer, M.; Kiss, T. The Family of Box ACA Small
 1317 Nucleolar RNAs Is Defined by an Evolutionarily Conserved Secondary Structure and
 1318 Ubiquitous Sequence Elements Essential for RNA Accumulation. *Genes Dev* **1997**, *11*
 1319 (7), 941–956. <https://doi.org/10.1101/gad.11.7.941>.
- 1320 (149) Jiang, X.; Xing, L.; Chen, Y.; Qin, R.; Song, S.; Lu, Y.; Xie, S.; Wang, L.; Pu, H.;
 1321 Gui, X.; Li, T.; Xu, J.; Li, J.; Jia, S.; Lu, D. CircMEG3 Inhibits Telomerase Activity by
 1322 Reducing Cbf5 in Human Liver Cancer Stem Cells. *Mol Ther Nucleic Acids* **2021**, *23*,
 1323 310–323. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.11.009>.
- 1324 (150) Dreumont, N.; Maresca, A.; Khandjian, E. W.; Baklouti, F.; Tanguay, R. M.
 1325 Cytoplasmic Nonsense-Mediated mRNA Decay for a Nonsense (W262X) Transcript of
 1326 the Gene Responsible for Hereditary Tyrosinemia, Fumarylacetoacetate Hydrolase.
 1327 *Biochem Biophys Res Commun* **2004**, *324* (1), 186–192.
 1328 <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.09.041>.
- 1329 (151) Jorquera, R. Fumarylacetoacetate, the Metabolite Accumulating in Hereditary
 1330 Tyrosinemia, Activates the ERK Pathway and Induces Mitotic Abnormalities and

- 1331 Genomic Instability. *Hum Mol Genet* **2001**, *10* (17), 1741–1752.
 1332 <https://doi.org/10.1093/hmg/10.17.1741>.
- 1333 (152) Luo, D.; He, Z.; Yu, C.; Guan, Q. Role of P38 MAPK Signalling in Testis
 1334 Development and Male Fertility. *Oxid Med Cell Longev* **2022**, *2022*, 1–12.
 1335 <https://doi.org/10.1155/2022/6891897>.
- 1336 (153) Awad, A. M.; Elshaer, S. L.; Gangaraju, R.; Abdelaziz, R. R.; Nader, M. A.
 1337 CysLTR1 Antagonism by Montelukast Can Ameliorate Diabetes-Induced Aortic and
 1338 Testicular Inflammation. *Int Immunopharmacol* **2023**, *125*, 111127.
 1339 <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.111127>.
- 1340 (154) Anderson, J. E.; Thliveris, J. A. Testicular Histology in Streptozotocin-induced
 1341 Diabetes. *Anat Rec* **1986**, *214* (4), 378–382. <https://doi.org/10.1002/ar.1092140407>.
- 1342 (155) Orman, D.; Vardi, N.; Ates, B.; Taslidere, E.; Elbe, H. Aminoguanidine Mitigates
 1343 Apoptosis, Testicular Seminiferous Tubules Damage, and Oxidative Stress in
 1344 Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Tissue Cell* **2015**, *47* (3), 284–290.
 1345 <https://doi.org/10.1016/j.tice.2015.03.006>.
- 1346 (156) Hamer, G.; Roepers-Gajadien, H. L.; van Duyn-Goedhart, A.; Gademan, I. S.; Kal,
 1347 H. B.; van Buul, P. P. W.; de Rooij, D. G. DNA Double-Strand Breaks and γ -H2AX
 1348 Signaling in the Testis1. *Biol Reprod* **2003**, *68* (2), 628–634.
 1349 <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.008672>.
- 1350 (157) Brill, J. A.; Yildirim, S.; Fabian, L. Phosphoinositide Signaling in Sperm
 1351 Development. *Semin Cell Dev Biol* **2016**, *59*, 2–9.
 1352 <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.06.010>.
- 1353 (158) Sadakierska-Chudy, A.; Patrylak, J.; Janeczko, J.; Chudy, J. Downregulation of
 1354 Gene Expression and the Outcome of ICSI in Severe Oligozoospermic Patients: A
 1355 Preliminary Study. *Mol Reprod Dev* **2020**, *87* (12), 1219–1230.
 1356 <https://doi.org/10.1002/mrd.23442>.
- 1357 (159) Chen, C.-B.; Ma, J.; Jia, J.; Li, Y.-Q.; Liu, A.-Q.; Dong, H.-J. [Reproduction-
 1358 Related Proteins Differentially Expressed in the Testes of the Mice with Kidney-Yang or
 1359 Kidney-Yin Deficiency]. *Zhonghua Nan Ke Xue* **2019**, *25* (3), 248–256.
- 1360 (160) Barragán, M.; Martínez, A.; Llonch, S.; Pujol, A.; Vernaev, V.; Vassena, R. Effect
 1361 of Ribonucleic Acid (RNA) Isolation Methods on Putative Reference Genes Messenger
 1362 RNA Abundance in Human Spermatozoa. *Andrology* **2015**, *3* (4), 797–804.
 1363 <https://doi.org/10.1111/andr.12053>.

- 1364 (161) Parte, P. P.; Rao, P.; Redij, S.; Lobo, V.; D'Souza, S. J.; Gajbhiye, R.; Kulkarni, V.
 1365 Sperm Phosphoproteome Profiling by Ultra Performance Liquid Chromatography
 1366 Followed by Data Independent Analysis (LC–MSE) Reveals Altered Proteomic
 1367 Signatures in Asthenozoospermia. *J Proteomics* **2012**, *75* (18), 5861–5871.
 1368 <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.07.003>.
- 1369 (162) Lee, I.-K. The Role of Pyruvate Dehydrogenase Kinase in Diabetes and Obesity.
 1370 *Diabetes Metab J* **2014**, *38* (3), 181. <https://doi.org/10.4093/dmj.2014.38.3.181>.
- 1371 (163) Ahmed Laskar, A.; Younus, H. Aldehyde Toxicity and Metabolism: The Role of
 1372 Aldehyde Dehydrogenases in Detoxification, Drug Resistance and Carcinogenesis. *Drug*
 1373 *Metab Rev* **2019**, *51* (1), 42–64. <https://doi.org/10.1080/03602532.2018.1555587>.
- 1374 (164) Aitken, R. J.; Drevet, J. R.; Moazamian, A.; Gharagozloo, P. Male Infertility and
 1375 Oxidative Stress: A Focus on the Underlying Mechanisms. *Antioxidants* **2022**, *11* (2), 306.
 1376 <https://doi.org/10.3390/antiox11020306>.
- 1377 (165) Schäfer, T.; Selig, M.; Schönheit, P. Acetyl-CoA Synthetase (ADP Forming) in
 1378 Archaea, a Novel Enzyme Involved in Acetate Formation and ATP Synthesis. *Arch*
 1379 *Microbiol* **1993**, *159* (1), 72–83. <https://doi.org/10.1007/BF00244267>.
- 1380 (166) Aleshin, A. E.; Zeng, C.; Bourenkov, G. P.; Bartunik, H. D.; Fromm, H. J.;
 1381 Honzatko, R. B. The Mechanism of Regulation of Hexokinase: New Insights from the
 1382 Crystal Structure of Recombinant Human Brain Hexokinase Complexed with Glucose
 1383 and Glucose-6-Phosphate. *Structure* **1998**, *6* (1), 39–50. [https://doi.org/10.1016/S0969-](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(98)00006-9)
 1384 [2126\(98\)00006-9](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(98)00006-9).
- 1385 (167) Yazıcı, D.; Sezer, H. Insulin Resistance, Obesity and Lipotoxicity; 2017; pp 277–
 1386 304. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_12.
- 1387

Insight into testicular cell metabolism in the diabetes and obesity: proteomics signatures

Marcos G. Carvalho, Gabriela C. Sousa, Yasmin E.H. Martins, Saurabh Tiwari, Jacob Thundathil, Fabiana F. Souza

SUPPORTING INFORMATION TABLES

Supplemental Table 1.

ROC curve proteins expressed in human testis (<https://www.proteinatlas.org/about/licence>).

Proteínas	Localização celular
60S ribosomal protein L24	Células de Leydig; Células nos ductos seminíferos
Acetyl-CoA acetyltransferase, mitochondrial	Células de Leydig; Espermatócito, Sertoli
Actin, aortic smooth muscle	Células de Leydig; Células nos ductos seminíferos
Casein kinase 2, alpha prime polypeptide	NA
Casein kinase II subunit alpha	Células de Leydig; Espermátides; Espermatócitos, Sertoli, Espermatogônia
Choline/ethanolamine kinase	Células de Leydig; Células nos ductos seminíferos
COP9 signalosome complex subunit 2	Células de Leydig; Células nos ductos seminíferos
Cyclin-dependent kinase 1	Espermatócito; Espermatogônia
DnaJ homolog subfamily B member 6	espermatogônias
Dynactin subunit 6	Células de Leydig; Células nos ductos seminíferos
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit C	Células de Leydig; Espermátocitos, Espermatogônias, Sertoli
Fatty acid synthase	Células de Leydig
Fumarylacetoacetase	Sertoli

Glycine amidinotransferase	Células nos ductos seminíferos
H/ACA ribonucleoprotein complex subunit DKC1	Células de Leydig, Espermatócitos, Espermatide, Espermatogônia; Sertoli
Histone deacetylase	Células de Leydig; Espermatócitos, Setoli, Espermatogônia; Celulas peritubalres
Histone H2A	Espermatócito; Espermatide, Espermatagônia
Histone H2B type 1	NA
Interleukin enhancer binding factor 2	Células de Leydig; Espermatócitos, Setoli, Espermatogônia; Celulas peritubalres
Lamina-associated polypeptide 2, isoform beta	NA
Large ribosomal subunit protein P2	NA
Large ribosomal subunit protein uL6	NA
Mitochondrial ribosomal protein S34	Células de Leydig; Sertoli
NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S protein 6	Células de Leydig; Espermátides; Espermatócitos, Setoli, Espermatogônia
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 6	NA
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 9, mitochondrial	Células de Leydig; Setoli, Espermatogônia
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 7	Células de Leydig; Sertoli
Nucleoporin 37	Espermatócito, espermatagônia, Sertoli
Nucleoporin 50	Células de Leydig; Espermatócitos, Espermatide, Setoli, Espermatogônia; Celulas peritubalres
Phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit	Células de Leydig; Espermátides; Espermatócitos, Setoli, Espermatogônia
Phosphatidylinositol transfer protein alpha isoform	NA
Pre-mRNA processing factor 40 homolog A	Células de Leydig; Células nos ductos seminíferos
Pre-mRNA processing factor 8	Células de Leydig; Espermatócitos, Espermatide, Espermatogônia;

Propionyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial	Células de Leydig; Sertoli
Regucalcin	Células de Leydig
Ribose-phosphate diphosphokinase	NA
Sad1 and UNC84 domain containing 2	Células de Leydig; Sertoli
Serpin family A member 5	Células de Leydig; Células nos ductos seminíferos
Sideroflexin-3	Células de Leydig; Sertoli
Small ArfGAP 1	Células de Leydig; Espermatídes; Espermatócitos, Setoli, Espermatogônia
Splicing factor 3A subunit 2	Células de Leydig, Espermatócitos, Espermatide, Espermatogônia; Sertoli
TBC1 domain family, member 15	Células de Leydig; ; Espermatócitos, Setoli, Espermatogônia
Thioredoxin reductase 2, mitochondrial	Células de Leydig; Espermatócitos, Espermatogônia
TSC22 domain family protein 1	NA
Zona pellucida-binding protein 2	Espermatídes; Espermatócitos, Espermatogônia
Zyxin	Células nos ductos seminíferos