

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA****EL SECRETARIADO DE INFRAESTRUCTURA CIENTÍFICA Y DESARROLLO TECNOLÓGICO****INFORMA****CITOMETRÍA DE FLUJO MULTIPARAMÉTRICA 5 LÁSER CON HUELLA ESPECTRAL**

El grupo de Reproducción y Espermatología Equina de la Facultad de Veterinaria ha incorporado a sus instalaciones un equipo de **"CITOMETRÍA DE FLUJO MULTIPARAMÉTRICA 5 LÁSER CON HUELLA ESPECTRAL"** con cargo al proyecto **EQC2018-005393-P** concedido por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades a través de las Ayudas para la Adquisición de Equipamiento Científico-Técnico correspondientes al Subprograma Estatal de Infraestructuras de Investigación y Equipamiento Científico-Técnico (Plan Estatal I+D+i 2017-2020) (convocatoria 2019), cofinanciado por la Agencia Estatal de Investigación (AEI) y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), y la Junta de Extremadura, cuyo Responsable Científico es el investigador **Fernando Juan Peña Vega**.

## **OBJETIVO Y FUNCIONALIDAD DEL EQUIPAMIENTO ADQUIRIDO**

### Características del equipamiento adquirido

Citómetro de flujo de gran capacidad, dotado con 6 láseres, ultravioleta, violeta, azul, verde, amarillo, rojo e infrarrojo. Otra característica de este equipo es la gran sensibilidad, permitiendo su uso para la detección de microvesículas, además está basado en la tecnología de fotodiodos de avalancha.





### Valor añadido e impacto científico-tecnológico de la adquisición

El equipo adquirido, ha incrementado la complejidad de los análisis mediante el análisis multiparamétrico. Esto permite, de un lado el estudio simultáneo de muchas características y fenotipos celulares, y de otro, un importante ahorro de tiempo. También la obtención más rápida de una gran cantidad de datos permite análisis bioestadísticos complejos que maximizan la cantidad de información obtenida. El equipo permite afianzar la posición del grupo en el campo de la citometría de flujo avanzada en espermatozoología, y damos también servicio a otros grupos introduciendo la tecnología en campos como la tecnología de alimentos, inmunología del aparato reproductor, y análisis de biopsias basadas en citometría para el estudio de cuadros de infertilidad e inmunología del desarrollo embrionario temprano e interacción espermatozoide-endometrio.

### Técnicas o investigaciones que el equipo permitirá desarrollar o abordar

Análisis de viabilidad espermática

Determinación de apoptosis  
Determinación de ferroptosis  
Determinación de necrosis  
Medición de autofagia  
Determinación de potencial de membrana mitocondrial  
Estrés oxidativo  
Peroxidación lipídica  
Oxidación de ADN  
Pruebas multiparamétricas  
Investigación de fenotipos celulares  
Análisis de biopsias de tejidos solidos

*Equipo responsable y potencial de utilización por parte de otros grupos de investigación*

El responsable del equipo es el grupo de Reproducción y Espermatología equina, en este momento se colabora con grupos trabajando en Tecnología de Alimentos y Biología celular, sin embargo cualquier grupo trabajando en áreas de fisiología y fisiopatología básica o clínica pueden ser potenciales usuarios del servicio. También el servicio se puede abrir a determinadas empresas, por ejemplo en control de calidad de leche para recuento celular, y clasificación de las células presentes.

*Producción Científica*

1. Ortiz-Rodríguez JM, Martín-Cano FE, Gaitskell-Phillips G, Silva A, Gil MC, Ortega-Ferrusola C, **Peña FJ (2021)** Low glucose and high pyruvate reduce the production of 2-oxoaldehydes improving mitochondrial efficiency, redox regulation and stallion sperm function. ***Biology of Reproduction***. 105, 519–532, DOI: 10.1093/biolre/ioab07.
2. Gaitskell-Phillips G, Martín Cano FE, Ortiz Rosdríguez JM, Silva Rodríguez A, Gil MC, Ortega Ferrusola C, **Peña FJ (2021)** In stallion spermatozoa, Superoxide dismutase (Cu-Zn) (SOD1) and the aldo-keto reductase family 1 member B (AKR1B1) are the proteins more significantly reduced after

cryopreservation. *Journal of Proteome Research* **20**, 2435–2446. [10.1021/acs.jproteome.0c00932](https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00932)

3. Gaitskell-Phillips G, Martín Cano FE, Ortiz Rosdríguez JM, Silva Rodríguez A, Rojo-Domínguez P, Tapia JA, Gil MC, Ortega Ferrusola C, **Peña FJ** (2021). Proteins involved in metabolic functions and fertilization predominate in stallions with better motility *Journal of Proteomics* **247**:104335 <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2021.104335>
4. Padilla P, Andrade MJ, **Peña FJ**, Rodriguez A, Estevez M (2022) Molecular mechanisms of the disturbance caused by malondialdehyde on probiotic Lactobacillus reuteri PL503 *Microbial biotechnology* **15**: 668–682 DOI: 10.1111/1751-7915.13723
5. Gemma Gaitskell-Phillips, Francisco E. Martín-Cano, José M Ortiz-Rodríguez, Antonio Silva-Rodríguez, Eva da Silva-Álvarez, Maria C. Gil, Cristina Ortega-Ferrusola, **Fernando J. Peña** (2022) Dataset of the proteome of stallions with different motility *Data in Brief* **45**: 108578. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2022.108578>
6. **Peña FJ**, O’Flaherty C, Ortiz Rodríguez JM, Martín Cano FE, Gaitskell Phillips G, Gil MC, Ortega Ferrusola C (2022) The stallion spermatozoa: A valuable model to help understand the interplay between metabolism and redox (de)regulation in sperm cells. *Antioxidants and Redox Signalling* doi: 10.1089/ars.2021.0092
7. Gaitskell-Phillips G, Martín Cano FE, Ortiz Rosdríguez JM, Gil MC, Ortega Ferrusola C, **Peña FJ** (2022). Seminal plasma proteins as potential biomarkers for sperm motility and velocities *Theriogenology* **177**:34–41 [doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.10.007](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.10.007)
8. Gaitskell-Phillips G, Martín Cano FE, Ortiz Rosdríguez JM, Silva Rodríguez A, Gil MC, Ortega Ferrusola C, **Peña FJ** (2022) The Seminal plasma proteins Peptidyl arginine deaminase 2, rRNA adenine N (6)-methyltransferase and KIAA0825 relate to

better motility post thaw in stallions  
*Theriogenology* 177:94-102

9. Fernando J. Peña, José M. Ortiz Rodríguez, Francisco E. Martín Cano, Gemma L. Gaitskell-Phillips, María C. Gil and Cristina Ortega Ferrusola (2022) An integrated overview of sperm metabolism (glycolysis-Krebs cycle-oxidative phosphorylation). *Animal Reproduction Science*  
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106805>
10. Patricia Padilla; Maria Jesus Andrade; Fernando Peña; Alicia Rodríguez; Mario Estevez (2022) An in vitro assay of the effect of lysine oxidation end-product,  $\alpha$ -amino adipic acid, on the redox status and gene expression in probiotic *Lactobacillus reuteri* *Amino Acids* (Accepted)
11. Da Silva Alvarez E, Gómez Arrones V, Martín Cano FE, Gaitskell Phillips G, Ortiz Rodríguez JM, Carrasco JJ, Gil MC, **Peña FJ**, Ortega-Ferrusola C 2022 Endometrial area of the blood flow as a marker of endometritis in equine *Reprod Domes Anim* doi:10.111/rda.14132.
12. Silvia Díaz-Velasco; Josue Delgado; Fernando J Peña, Mario Estévez (2022) Protein oxidation marker,  $\alpha$  amino adipic acid impairs proteome of differentiated human enterocytes: underlying toxicological mechanisms *BBA-Proteins and Proteomics* (accepted)
13. Gemma Gaitskell-Phillips, Francisco E. Martín-Cano, Eva da Silva-Álvarez, Jose A Tapia, Maria, C. Gil, *Cristina* Ortega-Ferrusola, **Fernando J. Peña** (2022) Phosphoproteomics identifies new mechanisms of cryodamage: A role for spata 18 in the control of stallion mitochondrial function *Biology of Reproduction* (submitted)
14. Raul A. Gonzalez-Castro, **Fernando J. Peña**, Lisa A. (2022) Herickhoff Validation of a new multiparametric protocol to assess viability, acrosome integrity and mitochondrial activity

simultaneously in the cooled and frozen-thawed boar spermatozoa *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 102:400–408. doi: 10.1002/cyto.b.22058.

15. Fernando J Peña Zamira Gibb 2022 Oxidative stress and the long-term storage of horse spermatozoa *Reproduction* <https://doi.org/10.1530/REP-22-0264>
16. Proteomics reveals the protective effect of Chlorogenic acid on *Enterococcus faecium* Q233 in a stimulated pro-oxidant colonic environment (2022) *Food Research International*.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111464>