

# ANEJOS

---

## ANEJO I

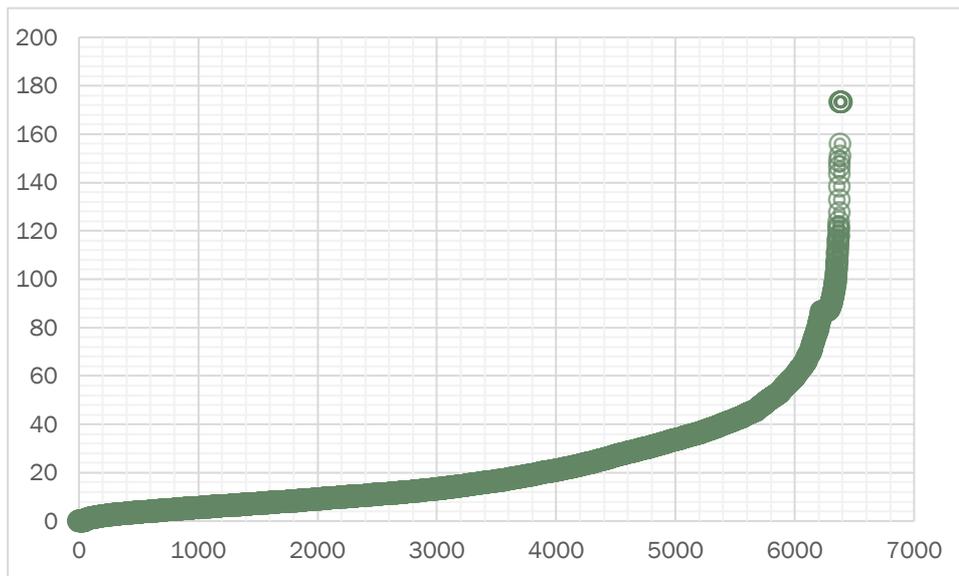
---

## ANEJO I

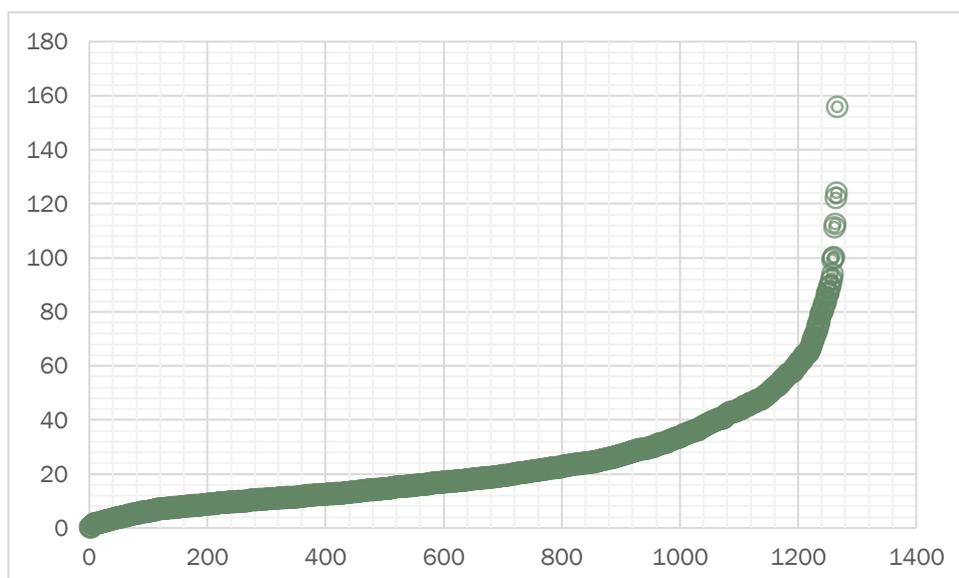
En este Anejo se incluyen los resultados del análisis de la reproducibilidad del ensayo proteómico seguido, “bottom-up” basado en un espectrómetro de masas en tándem acoplado a cromatografía líquida (LC-MS/MS). La **Tabla Al. 1** recoge el resumen de este ensayo, mientras que las figuras, en las que se enfrenta el número de péptidos o proteínas identificados (eje X) y los coeficientes de variación (CV) calculados, reflejan las distribuciones de estos CV calculados para las intensidades de los péptidos (**Figura Al. 1**), las de las proteínas (**Figura Al. 2**) y las intensidades LFQ de las proteínas (**Figura Al. 3**).

**Tabla Al. 1.** Tabla resumen del ensayo de reproducibilidad. Para la depuración en base a la intensidad de los péptidos, en base a la intensidad de las proteínas y en base a la intensidad “Label-free quantification” (LFQ) de las proteínas se recoge: el número de péptidos o proteínas identificadas por MaxQuant, el número de péptidos o proteínas que quedan tras depurar los archivos, el número de péptidos con un coeficiente de variación (CV) aceptable (< 20%) y el promedio y la mediana de los CV.

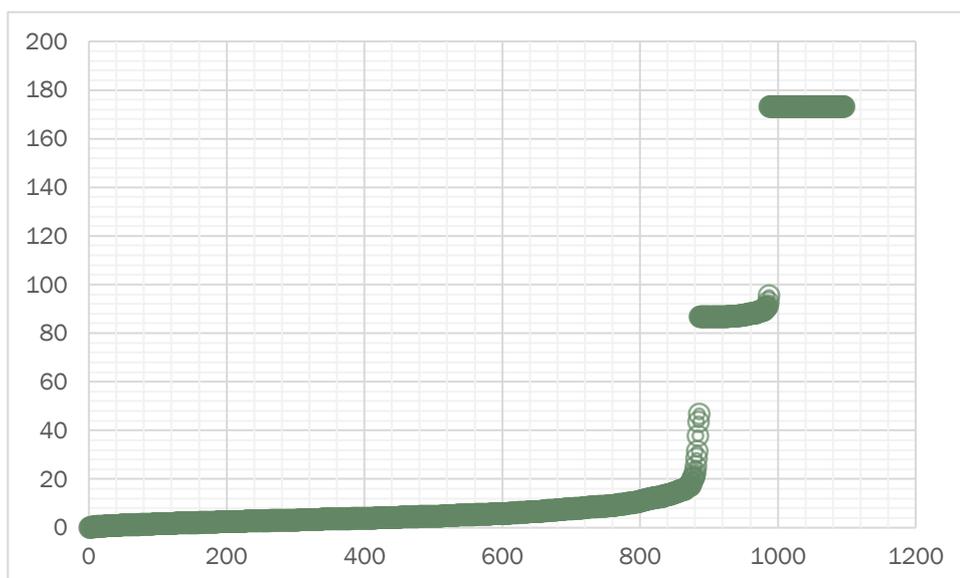
<b>Intensidad (péptidos)</b>	
Número de péptidos	10226
Número de péptidos después de filtrar	6394
Número de péptidos con CV<20% (% del total)	3884(61%)
Promedio CV	21,91%
Mediana CV	14,5%
<b>Intensidad (proteínas)</b>	
Número de proteínas	1484
Número de proteínas después de filtrar	1266
Número de proteínas con CV<20% (% del total)	724(57,2%)
Promedio CV	23,30%
Mediana CV	17,42%
<b>Intensidad LFQ (proteínas)</b>	
Número de proteínas	1484
Número de proteínas después de filtrar	1096
Número de proteínas con CV<20% (% del total)	875(79,84%)
Promedio CV	29,68%
Mediana CV	5,24%



**Figura AI. 1.** Distribución de los coeficientes de variación (CV) de los péptidos identificados en base a la intensidad. En el eje X se representa el n° de péptidos, mientras que en el eje Y se representa el coeficiente de variación (CV) de la intensidad en las tres carreras.



**Figura AI. 2.** Distribución de los coeficientes de variación (CV) de las proteínas identificadas en base a la intensidad. En el eje X se representa el n° de proteínas, mientras que en el eje Y se representa el coeficiente de variación (CV) de la intensidad de las tres carreras.



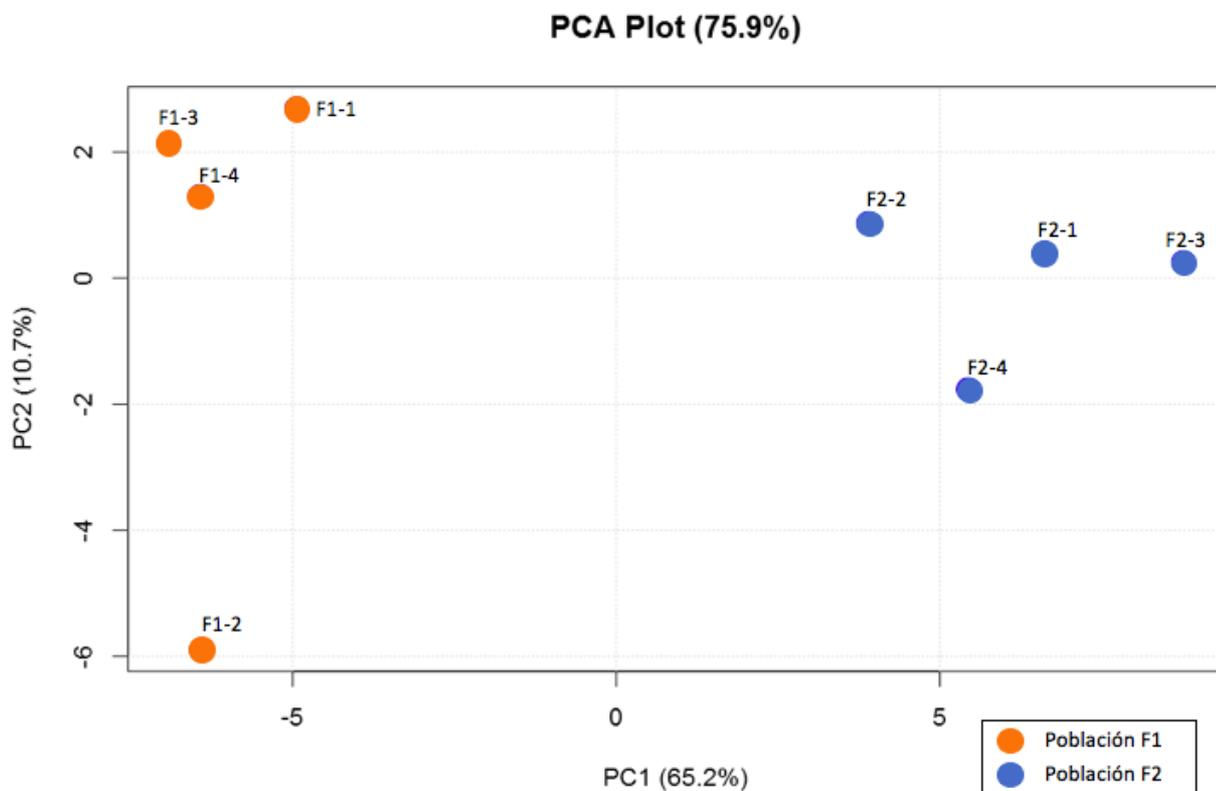
**Figura Al. 3.** Distribución de los coeficientes de variación (CV) de las proteínas identificadas en base a la intensidad “Label-free quantification” (LFQ). En el eje X se representa el n° de proteínas, mientras que en el eje Y se representa el coeficiente de variación (CV) de la intensidad de las tres carreras.

## ANEJO II

---

## ANEJO II

Este Anejo recoge los gráficos de dispersión generados con el Análisis de Componentes Principales (ACP) para las comparaciones **F1 vs F2** (Figura AII. 1), **F1 vs VF1** (Figura AII. 3) y **F2 vs VF2** (Figura AII. 5), así como los *HeatMap* obtenidos con el algoritmo de agrupamiento jerárquico basado en el método “Complete-linkage” para las mismas comparaciones (Figura AII. 2, AII. 4 y AII. 6, respectivamente).



**Figura AII. 1.** Gráfico obtenido con el Análisis de la Componente Principal (ACP) de las proteínas diferencialmente expresadas en la comparación **F1 vs F2**. La componente principal 1 (PC1; 65,2% de la variabilidad), separa las muestras del grupo **F1** de las del grupo **F2**.

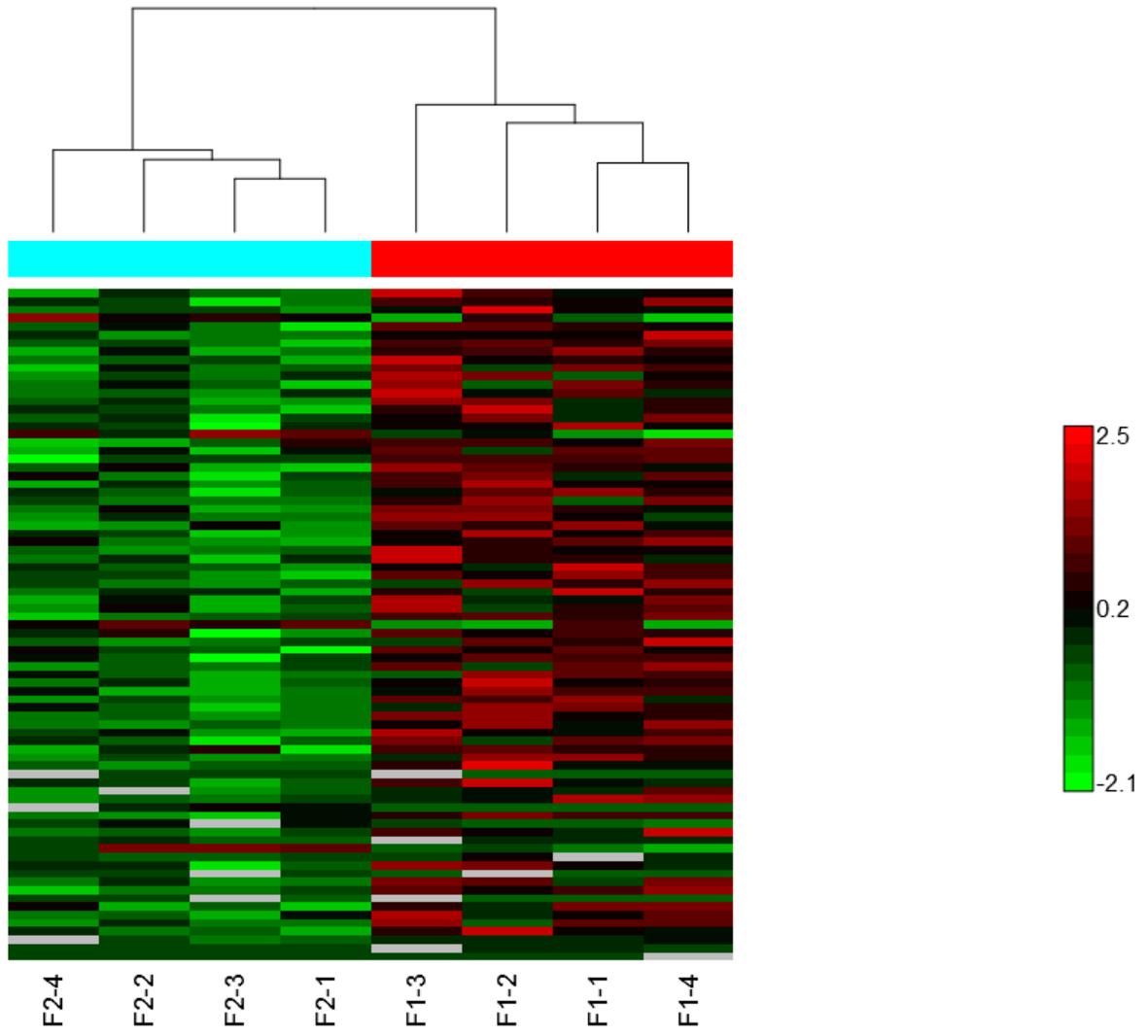
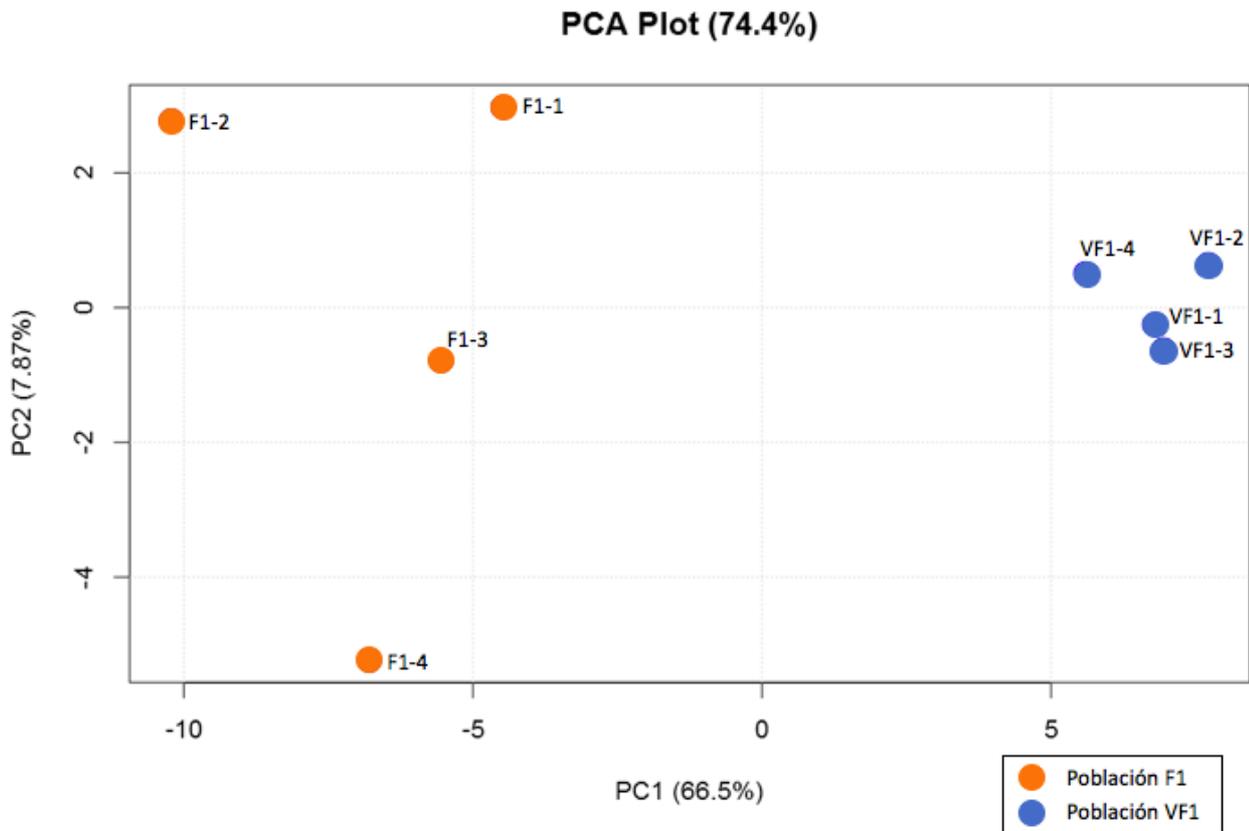


Figura AII. 2. *HeatMap* obtenido con el clustering de las muestras de la comparación **F1 vs F2** en base a las proteínas diferencialmente esperadas de la misma comparación.



**Figura AII. 3.** Gráfico obtenido tras el Análisis de la Componente Principal (ACP) de las proteínas diferencialmente expresadas en la comparación **F1 vs VF1**. La componente principal 1 (PC1; 66,5% de la variabilidad), separa las muestras del grupo **F1** de las del grupo **VF1**.

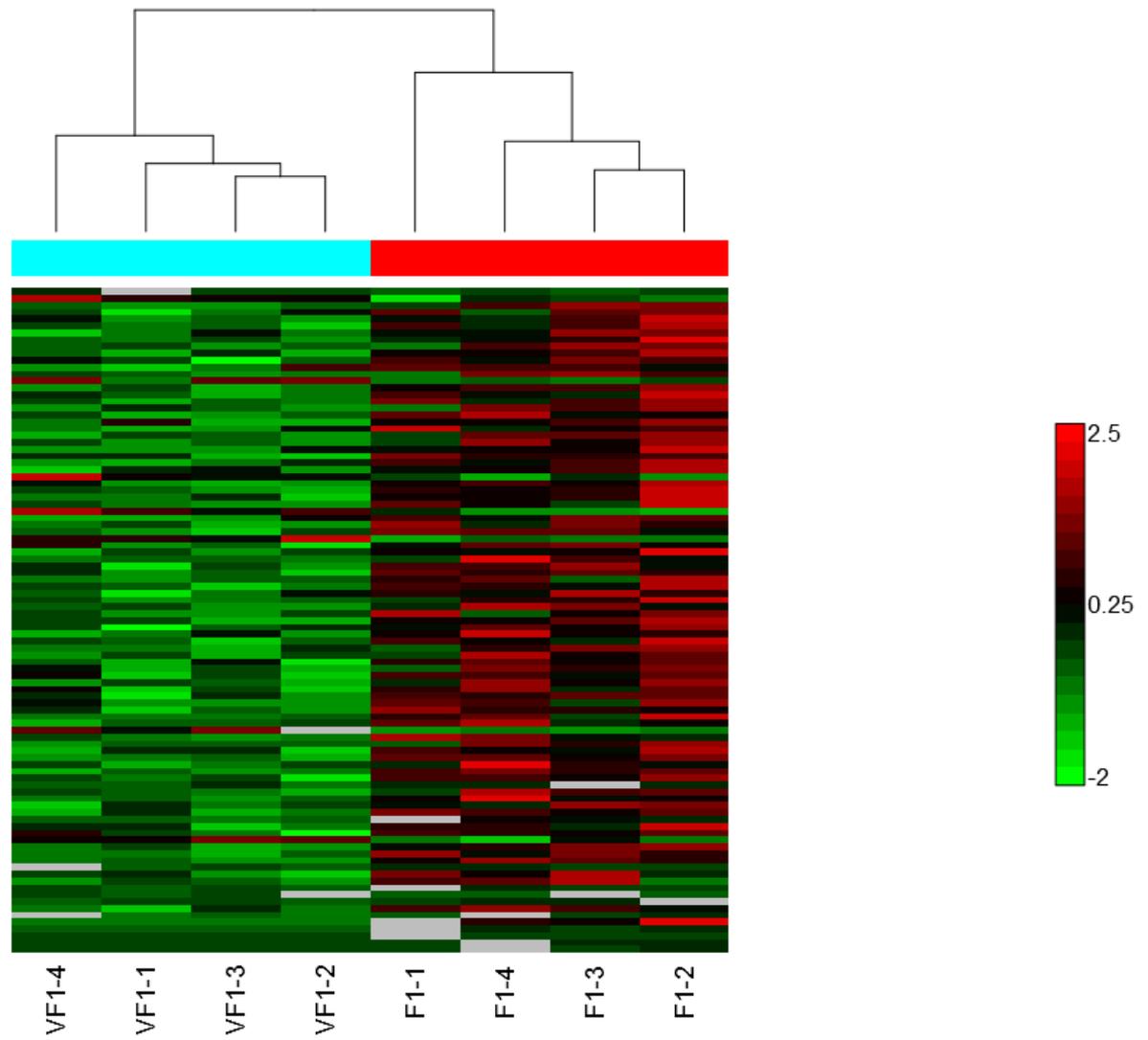
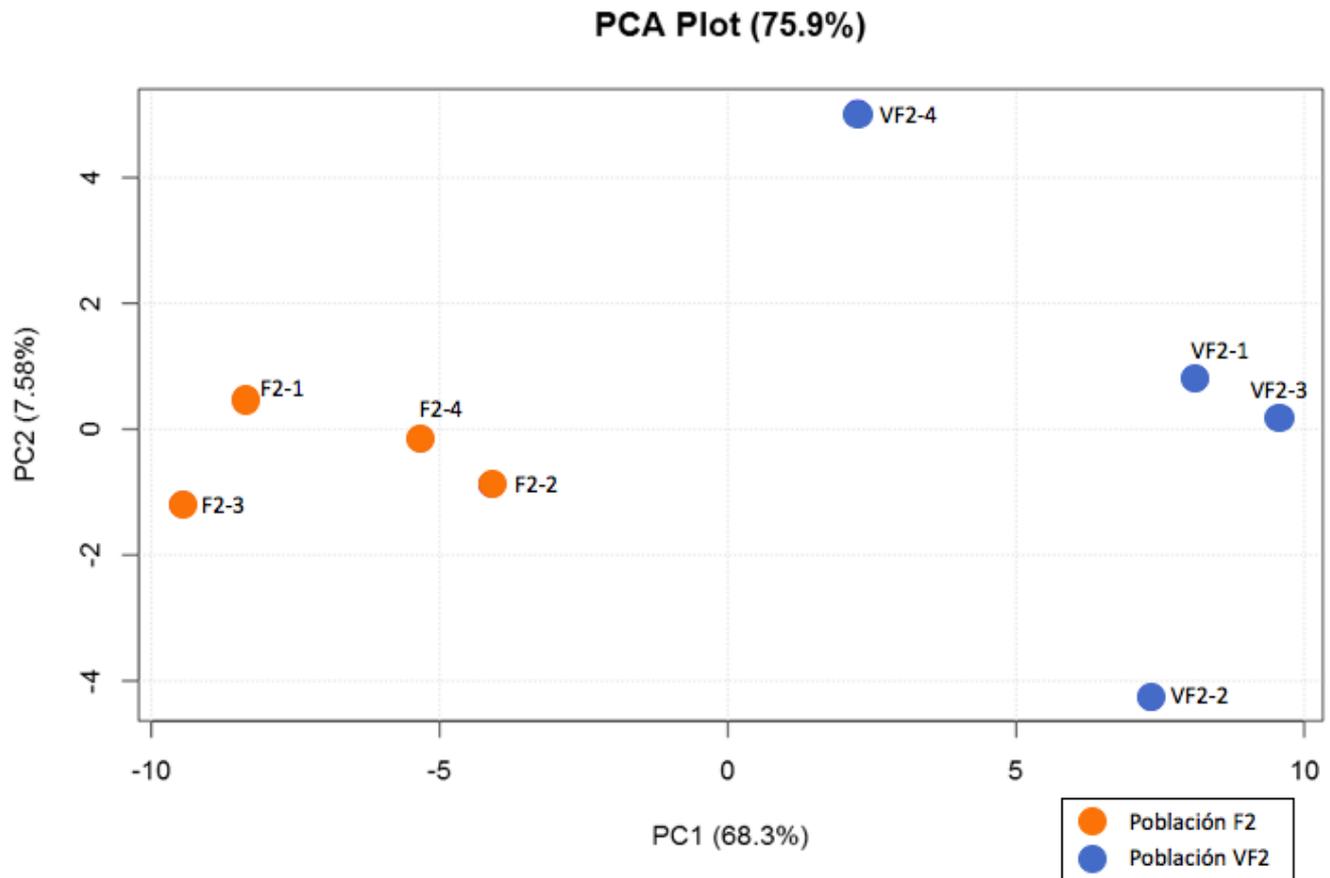


Figura AII. 4. Heatmap obtenido con el clustering de las muestras de la comparación **F1 vs VF1** en base a las proteínas diferencialmente expresadas en la misma comparación.



**Figura AII. 5.** Gráfico obtenido tras el Análisis de la Componente Principal (ACP) de las proteínas diferencialmente expresadas en la comparación **F2 vs VF2**. La componente principal 1 (PC1; 68,3% de la variabilidad), separa las muestras del grupo **F2** de las del grupo **VF2**.

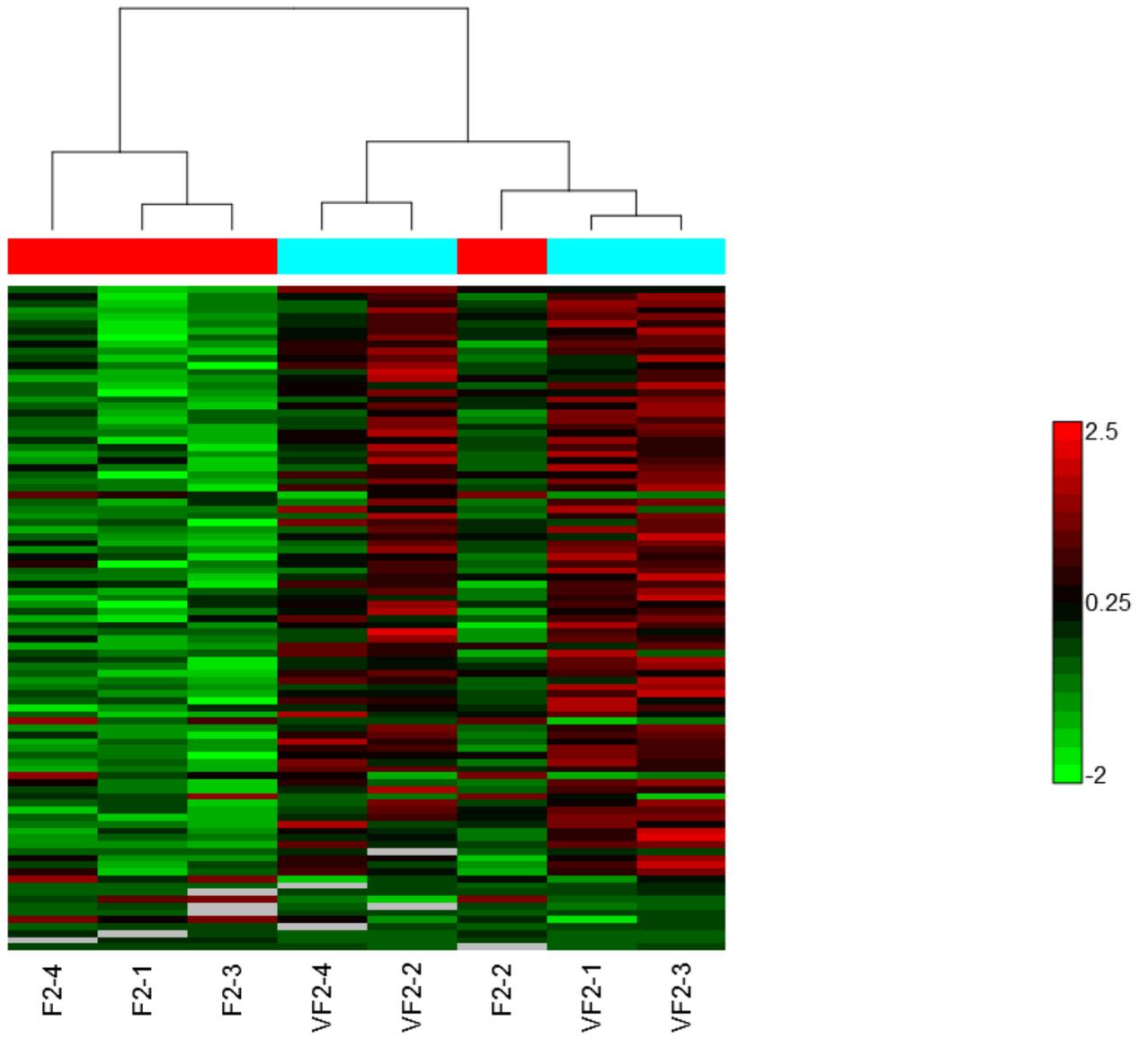


Figura AII. 6. *Heatmap* obtenido con el clustering de las muestras de la comparación **F2 vs VF2** en base a las proteínas diferencialmente expresadas en la misma comparación.

## ANEJO III

---

## ANEJO III

En este Anejo se incluyen tres tablas (**Tabla AIII. 1 a AIII. 3**), correspondientes a las tres comparaciones consideradas respectivamente (**F1 vs F2**, **F1 vs VF1** y **F2 vs VF2**). Estas recogen las proteínas diferencialmente expresadas (p-valor ANOVA inferior a 0,05) que permanecen tras aplicar los filtros descritos en el apartado 3.7.3. Para cada proteína que permanece se incluye su p-valor obtenido en ANOVA, el Fold-Change (FC) de las intensidades promedio y el estadístico T obtenido con el t-Test realizado.

**Tabla AIII. 1.** Proteínas diferencialmente expresadas y filtrada en base a los valores del Fold Change (FC) de las intensidades promedio y del t-test para la comparación **F1 vs F2** (efecto de la generación).

Proteína diferencialmente expresadas <sup>a</sup>	p-valor <sup>b</sup>	FC <sup>c</sup>	Estadístico-T <sup>d</sup>
182 kDa tankyrase-1-binding protein	0,015	-0,539	0,015
40S ribosomal protein S27-like	0,010	1,303	0,010
Actin, aortic smooth muscle	0,003	15,266	0,053
Acyl-coenzyme A synthetase ACSM1, mitochondrial	0,039	-0,339	0,039
Acyl-coenzyme A synthetase ACSM2B, mitochondrial	0,007	-0,502	0,007
Acyl-coenzyme A synthetase ACSM5, mitochondrial	0,008	-0,642	0,008
Alcohol dehydrogenase 6	0,004	2,045	0,117
Annexin A13	0,028	0,993	0,028
Apolipoprotein C-I	0,010	-0,475	0,010
ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit clpX-like, mitochondrial	0,031	-0,469	0,031
Cathepsin Z	0,020	-0,398	0,020
Cellular nucleic acid-binding protein	0,028	-0,359	0,028
Cocaine esterase	0,049	0,630	0,049
Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial	0,013	-0,391	0,013
Cytochrome b-c1 complex subunit 6, mitochondrial	0,045	-0,363	0,045
Cytochrome c	0,012	-0,339	0,012
Cytochrome c oxidase copper chaperone	0,001	-0,888	0,050
Cytochrome P450 2C18	0,050	-0,362	0,050
Cytosolic 5'-nucleotidase 3A	0,017	1,101	0,228
Dipeptidyl peptidase 1	0,009	-0,436	0,009
Enoyl-CoA delta isomerase 2, mitochondrial	0,008	-0,612	0,008
Glutaredoxin-1	0,000	-0,841	0,000
Glutathione S-transferase Mu 1	0,025	-0,359	0,025
Golgin subfamily A member 2	0,004	-0,811	0,001
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	0,020	-0,424	0,020
Histidine triad nucleotide-binding protein 2, mitochondrial	0,032	-0,403	0,032
Immunoglobulin heavy constant alpha 1	0,011	-0,546	0,011

Immunoglobulin J chain	0,042	-0,476	0,042
Ketimine reductase mu-crystallin	0,025	-0,339	0,025
Methylcrotonoyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial	0,022	-0,377	0,022
Mitochondrial ornithine transporter 1	0,025	-0,465	0,025
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 8	0,040	-0,377	0,040
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 9	0,026	-0,423	0,026
NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 2, mitochondrial	0,046	-0,420	0,046
NADH-ubiquinone oxidoreductase 75 kDa subunit, mitochondrial	0,017	-0,376	0,017
NADPH-cytochrome P450 reductase	0,029	-0,415	0,029
NIF3-like protein 1	0,038	1,661	0,038
Palmdelphin	0,045	-0,469	0,045
Peroxisomal trans-2-enoyl-CoA reductase	0,012	-0,371	0,012
Protein canopy homolog 2	0,001	-0,434	0,001
Protein FAM136A	0,020	-0,654	0,020
Protein Hook homolog 3	0,001	-0,699	0,099
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial	0,002	-0,429	0,002
RNA-binding protein 4B	0,022	-0,449	0,022
SAP domain-containing ribonucleoprotein	0,035	-0,451	0,035
SEC14-like protein 3	0,036	-0,758	0,013
Serine-threonine kinase receptor-associated protein	0,048	-0,446	0,048
Serine/arginine-rich splicing factor 10	0,007	-0,490	0,007
Sodium-coupled neutral amino acid transporter 3	0,002	-0,567	0,002
Sorting nexin-12	0,018	-0,468	0,018
Sorting nexin-5	0,021	-0,434	0,021
Thymidine phosphorylase	0,024	-0,426	0,024
Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial	0,037	-0,393	0,037
Ubiquinone biosynthesis protein COQ9, mitochondrial	0,004	-0,336	0,004
UPF0160 protein MYG1, mitochondrial	0,043	1,389	0,203

<sup>a</sup>Nombre de la proteína humana homóloga a la proteína de conejo identificada.

<sup>b</sup>p-valor obtenido con el Análisis de la Varianza (ANOVA), con el que obtienen las proteínas diferencialmente expresadas (p-valor<0,05).

<sup>c-d</sup>Filtros aplicados sobre las proteínas diferencialmente expresadas en base al Fold Change (FC) de las intensidades promedio<sup>c</sup> y del estadístico t calculado<sup>d</sup>.

**Tabla AIII. 2.** Proteínas diferencialmente expresadas y filtradas en base a los valores del Fold Change (FC) de las intensidades promedio y del t-Test para la comparación **F1 vs VF1** (efecto directo de la criopreservación).

Proteína diferencialmente expresadas <sup>a</sup>	p-valor <sup>b</sup>	FC <sup>c</sup>	Estadístico-T <sup>d</sup>
5'-AMP-activated protein kinase catalytic subunit alpha-1	0,018	-0,907	0,090
60S ribosomal protein L15	0,022	-0,464	0,022
60S ribosomal protein L23a	0,005	-0,369	0,005
60S ribosomal protein L5	0,002	-0,459	0,002

Afamin	0,047	-0,523	0,047
Apolipoprotein A-IV	0,012	-0,434	0,012
Bile salt export pump	0,009	-0,437	0,009
Calpastatin	0,005	-0,430	0,005
Carbonyl reductase [NADPH] 1	0,014	-0,997	0,070
Cold shock domain-containing protein E1	0,002	-0,514	0,002
Crk-like protein	0,018	-0,342	0,018
Cytochrome b-c1 complex subunit 6, mitochondrial	0,024	-0,330	0,024
Cytochrome c	0,036	-0,306	0,036
Cytochrome P450 1A1	0,047	-0,595	0,047
Cytochrome P450 2B6	0,049	-0,505	0,049
Cytochrome P450 2B6	0,023	-0,655	0,023
Cytochrome P450 2C18	0,016	-0,500	0,016
Cytochrome P450 2E1	0,023	-0,617	0,023
Cytochrome P450 3A4	0,049	-0,774	0,049
Cytoskeleton-associated protein 4	0,000	-0,695	0,000
D-dopachrome decarboxylase	0,005	0,530	0,005
Erlin-1	0,000	-0,924	0,037
Ethanolamine-phosphate phospho-lyase	0,013	-0,432	0,013
Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A	0,028	-0,547	0,028
Glutathione S-transferase P	0,039	-0,322	0,039
Golgin subfamily A member 2	0,001	-0,414	0,001
GTP-binding protein SAR1b	0,008	-0,336	0,008
Guanine nucleotide-binding protein G(k) subunit alpha	0,000	-0,899	0,041
Guanosine-3',5'-bis(diphosphate) 3'-pyrophosphohydrolase MESH1	0,002	2,910	0,089
Immunoglobulin heavy constant alpha 1	0,007	-0,394	0,007
Indolethylamine N-methyltransferase	0,007	-0,301	0,007
Interferon-induced GTP-binding protein Mx1	0,029	-0,575	0,029
Lamin-B1	0,017	-0,365	0,017
Leucine zipper protein 1	0,006	1,240	0,006
Methyltransferase-like protein 7A	0,033	-0,414	0,033
Mitochondrial fission factor	0,001	-0,935	0,043
Myosin-11	0,039	0,527	0,039
N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	0,009	0,846	0,009
Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF3	0,004	-0,616	0,004
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 8	0,014	-0,518	0,014
Palmdelphin	0,037	-0,414	0,037
Peroxisomal 2,4-dienoyl-CoA reductase	0,002	3,538	0,081
Peroxisomal trans-2-enoyl-CoA reductase	0,011	-0,333	0,011
Phospholipase D3	0,039	-0,729	0,128
Protein FAM136A	0,044	-0,515	0,044

Quinone oxidoreductase PIG3	0,007	-0,367	0,007
Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1	0,003	-0,542	0,003
S-phase kinase-associated protein 1	0,036	-0,408	0,036
Serine-pyruvate aminotransferase	0,007	-0,389	0,007
Serine/arginine-rich splicing factor 10	0,048	-0,443	0,048
Sodium-coupled neutral amino acid transporter 3	0,007	-0,459	0,007
Spectrin beta chain, non-erythrocytic 1	0,047	-0,305	0,047
Thymidine phosphorylase	0,023	-0,313	0,023
Transgelin-2	0,031	-0,331	0,031
UDP-glucuronosyltransferase 1-3	0,031	-0,486	0,031
UDP-glucuronosyltransferase 2B4	0,020	-0,499	0,020
UPF0160 protein MYG1, mitochondrial	0,001	1,224	0,188
UV excision repair protein RAD23 homolog B	0,024	-0,368	0,024
Vacuolar protein sorting-associated protein 29	0,001	-0,436	0,001

**Tabla AIII. 3.** Proteínas diferencialmente expresadas y filtrada en base a los valores del Fold Change (FC) de las intensidades promedio y del t-Test para la comparación **F2 vs VF2** (efecto transgeneracional de la criopreservación).

Proteínas diferencialmente expresadas <sup>a</sup>	p-valor <sup>b</sup>	FC <sup>c</sup>	Estadístico-T <sup>d</sup>
182 kDa tankyrase-1-binding protein	0,004	1,071	0,004
2-oxoglutarate dehydrogenase, mitochondrial	0,008	0,586	0,008
2-oxoisovalerate dehydrogenase subunit beta, mitochondrial	0,036	0,548	0,036
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11	0,004	0,730	0,004
28 kDa heat- and acid-stable phosphoprotein	0,034	0,934	0,034
3-ketoacyl-CoA thiolase, mitochondrial	0,016	0,439	0,016
40S ribosomal protein S13	0,048	1,016	0,048
40S ribosomal protein S27-like	0,008	-0,624	0,008
60S ribosomal protein L27	0,045	1,169	0,045
60S ribosomal protein L32	0,036	1,171	0,036
60S ribosomal protein L32	0,046	1,093	0,046
Actin-binding LIM protein 1	0,019	1,521	0,019
Acyl-coenzyme A synthetase ACSM5, mitochondrial	0,001	0,940	0,001
Alanine-glyoxylate aminotransferase 2, mitochondrial	0,001	0,561	0,001
Alpha-soluble NSF attachment protein	0,018	0,444	0,018
Apoptosis-inducing factor 1, mitochondrial	0,007	0,563	0,007
ATP-dependent (S)-NAD(P)H-hydrate dehydratase	0,017	0,474	0,017
Bile acid-CoA:amino acid N-acyltransferase	0,004	0,519	0,004
Calcyclin-binding protein	0,017	0,439	0,017
Cellular nucleic acid-binding protein	0,035	0,942	0,035
Cocaine esterase	0,037	2,187	0,037
Collagen alpha-2(I) chain	0,007	1,571	0,009
Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial	0,022	0,496	0,022

Cytochrome c oxidase copper chaperone	0,000	13,798	0,035
Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial	0,042	0,448	0,042
Cytochrome c oxidase subunit NDUFA4	0,003	0,496	0,003
Eukaryotic translation initiation factor 1A, X-chromosomal	0,037	0,645	0,037
Gap junction beta-3 protein	0,024	1,033	0,024
Glutamate dehydrogenase 1, mitochondrial	0,043	0,534	0,043
Glutaredoxin-1	0,007	3,150	0,007
Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha isoforms short	0,044	-0,477	0,044
Histidine triad nucleotide-binding protein 2, mitochondrial	0,026	0,550	0,026
Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, cytoplasmic	0,034	3,728	0,034
Iron-sulfur cluster assembly 1 homolog, mitochondrial	0,019	6,520	0,101
Isoform 15 of Fibronectin	0,007	0,989	0,007
Junction plakoglobin	0,032	0,462	0,032
Ketimine reductase mu-crystallin	0,037	0,508	0,037
LIM domain only protein 7	0,031	1,321	0,031
Methylcrotonoyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial	0,004	0,666	0,004
N-acetylserotonin O-methyltransferase-like protein	0,027	1,473	0,027
N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	0,030	-0,533	0,229
Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF1	0,027	0,922	0,027
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 10, mitochondrial	0,045	1,089	0,045
Nuclease-sensitive element-binding protein 1	0,047	0,642	0,047
Nucleosome assembly protein 1-like 1	0,004	1,107	0,197
Ornithine aminotransferase, mitochondrial	0,013	0,675	0,013
Peroxisomal trans-2-enoyl-CoA reductase	0,037	0,479	0,037
Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP], mitochondrial	0,040	0,494	0,040
Plasminogen	0,041	-0,426	0,041
Poly(ADP-ribose) glycohydrolase ARH3	0,041	1,408	0,024
Porphobilinogen deaminase	0,037	0,511	0,037
Prefoldin subunit 6	0,003	1,079	0,003
Programmed cell death protein 4	0,010	-0,881	0,080
Prolargin	0,040	-0,485	0,040
Propionyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial (	0,035	0,511	0,035
Protein canopy homolog 3	0,017	1,320	0,017
Putative hydroxypyruvate isomerase	0,002	0,502	0,002
Ras-related protein Rab-5C	0,000	0,819	0,000
SAP domain-containing ribonucleoprotein	0,049	0,680	0,049
Serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial	0,037	0,555	0,037
Serine-threonine kinase receptor-associated protein	0,012	1,039	0,012
Thyroid peroxidase	0,047	-0,485	0,047
Trafficking protein particle complex subunit 9	0,038	4,915	0,038
Transcriptional activator protein Pur-beta	0,001	-0,774	0,073

<b>Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial</b>	0,014	0,981	0,014
<b>Ubiquilin-1</b>	0,050	0,719	0,050
<b>Ubiquinone biosynthesis protein COQ9, mitochondrial</b>	0,003	0,631	0,003
<b>UDP-glucuronosyltransferase 1-6</b>	0,001	-0,902	0,047

<sup>a</sup>Nombre de la proteína humana homóloga a la proteína de conejo identificada.

<sup>b</sup>p-valor obtenido con el Análisis de la Varianza (ANOVA), con el que obtienen las proteínas diferencialmente expresadas (p-valor<0,05).

<sup>c-d</sup>Filtros aplicados sobre las proteínas diferencialmente expresadas en base al Fold Change (FC) de las intensidades promedio<sup>c</sup> y del estadístico t calculado<sup>d</sup>.

## ANEJO IV

## ANEJO IV

En este Anejo se recogen los gráficos circulares proporcionados por Panther sobre las categorías GO evaluadas (“Procesos biológico” y “Función Molecular”) para cada comparación considerada: F1 vs F2 (Figura AIV. 1 y AIV. 2), F1 vs VF1 (Figura AIV. 3 y AIV. 4) y F2 vs VF2 (Figura AIV.5 y AIV.6).

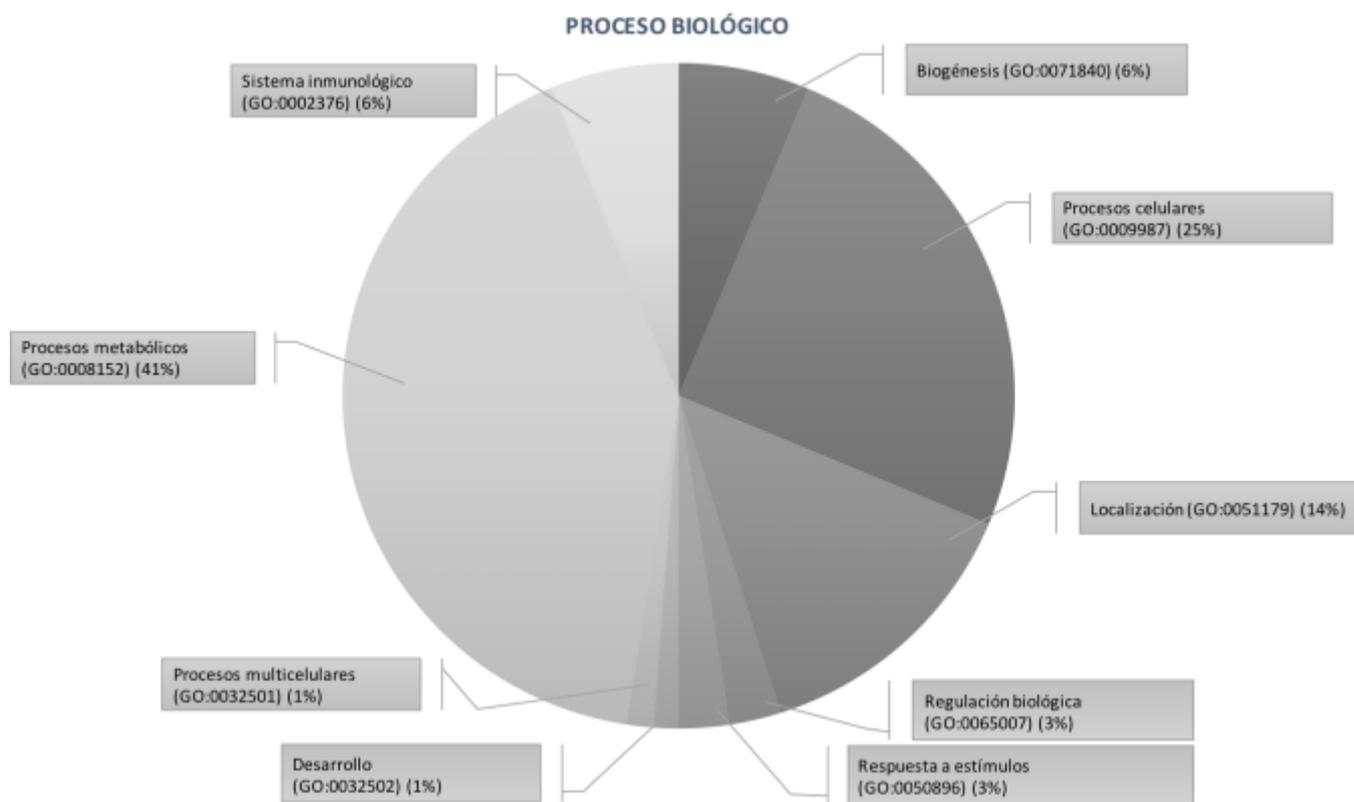
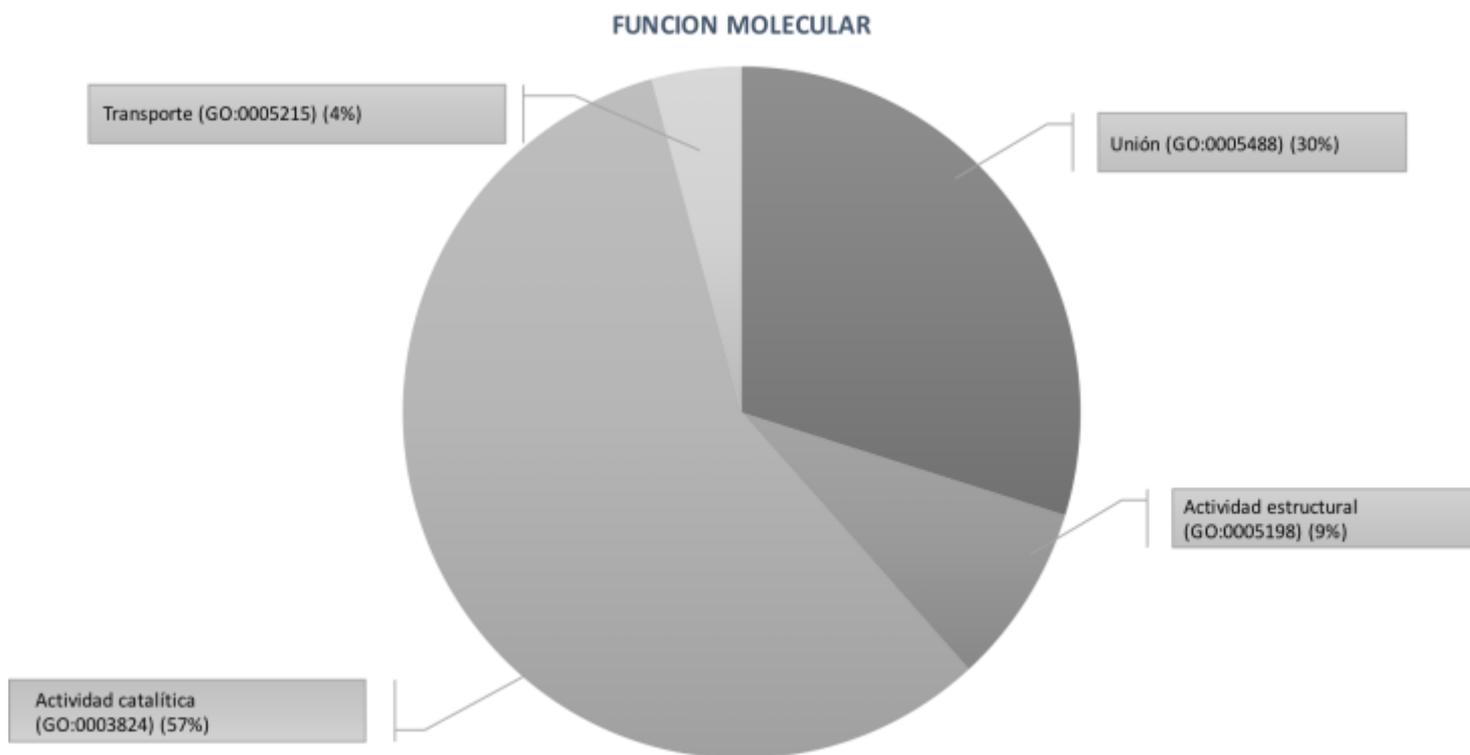
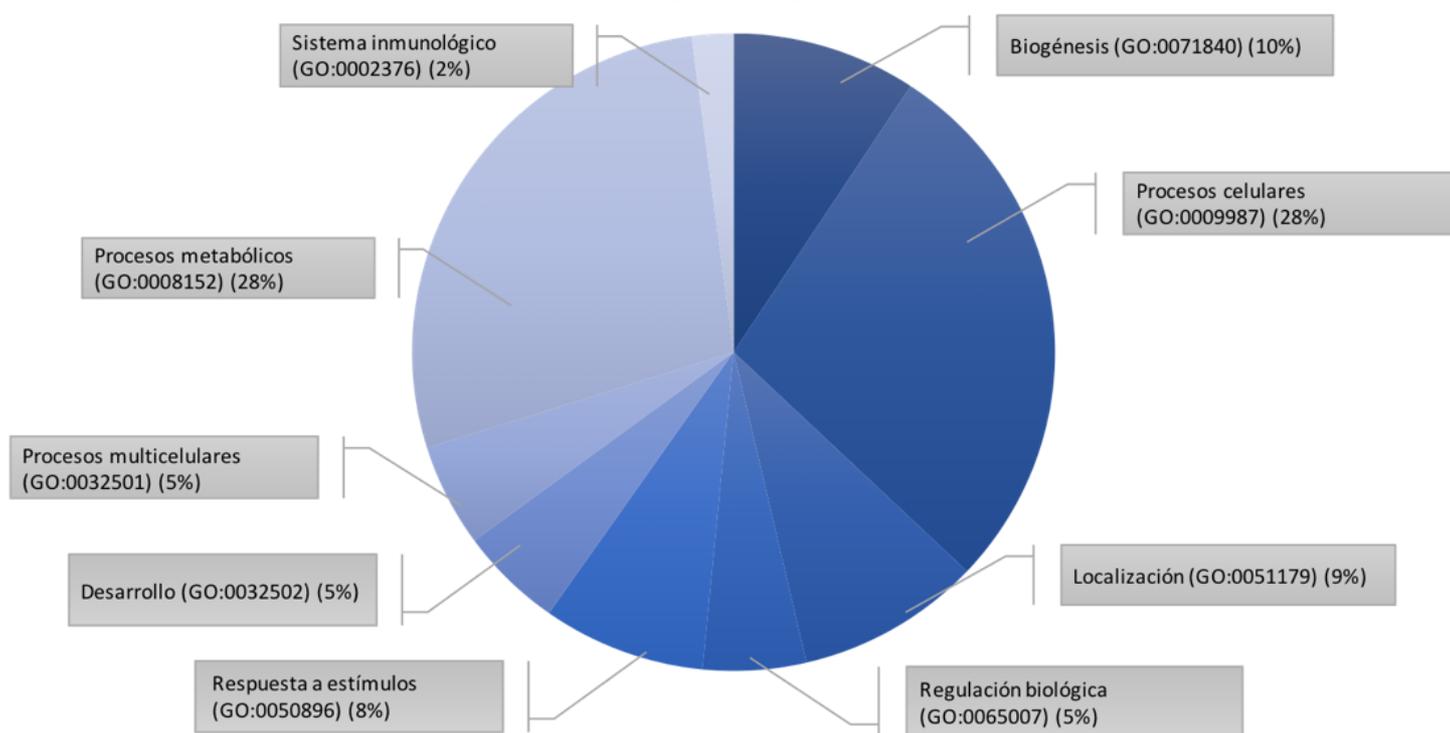


Figura AIV. 1. Gráfico circular obtenido mediante Panther sobre los procesos moleculares afectados por el efecto de la generación (F1 vs F2).

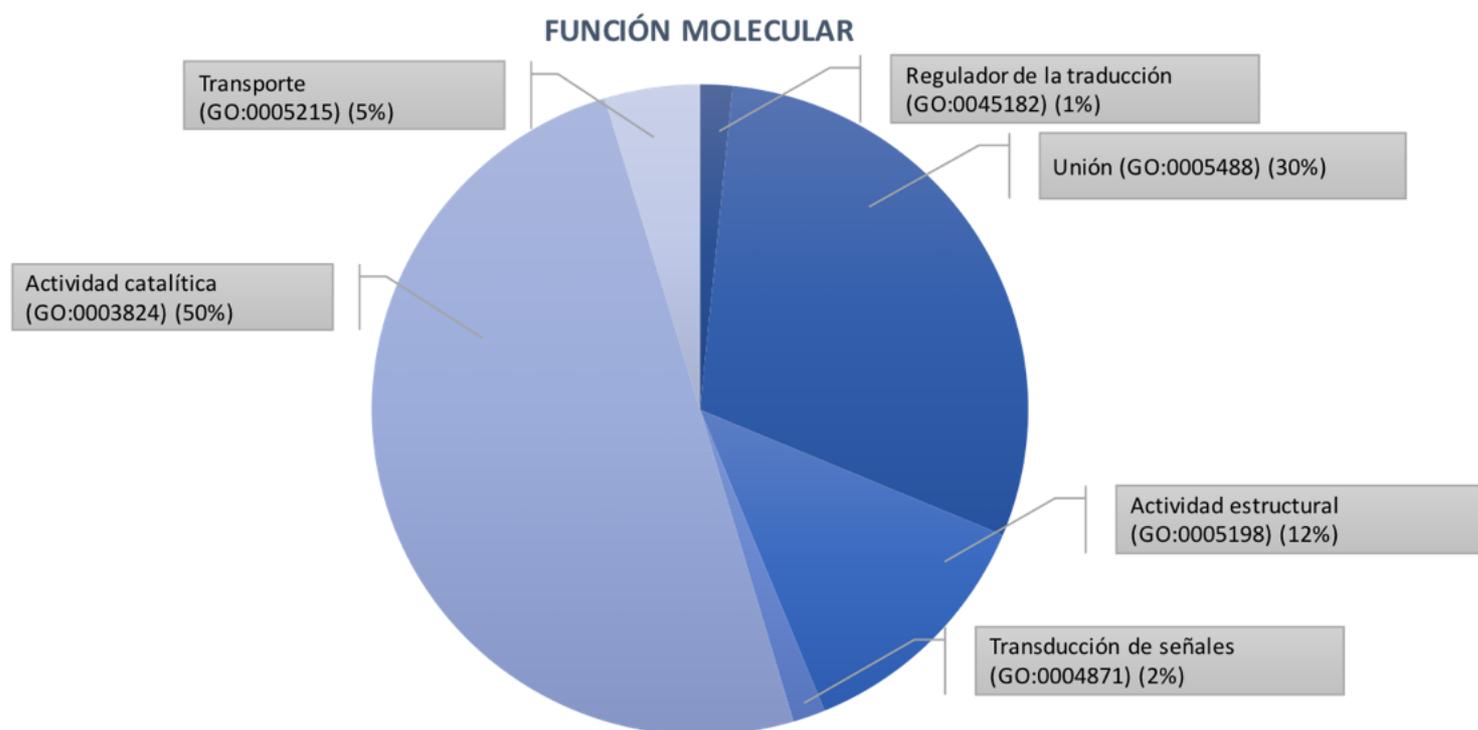


**Figura AIV. 2.** Gráfico circular obtenido mediante Panther sobre las funciones moleculares afectadas por el efecto de la generación (F1 vs F2).

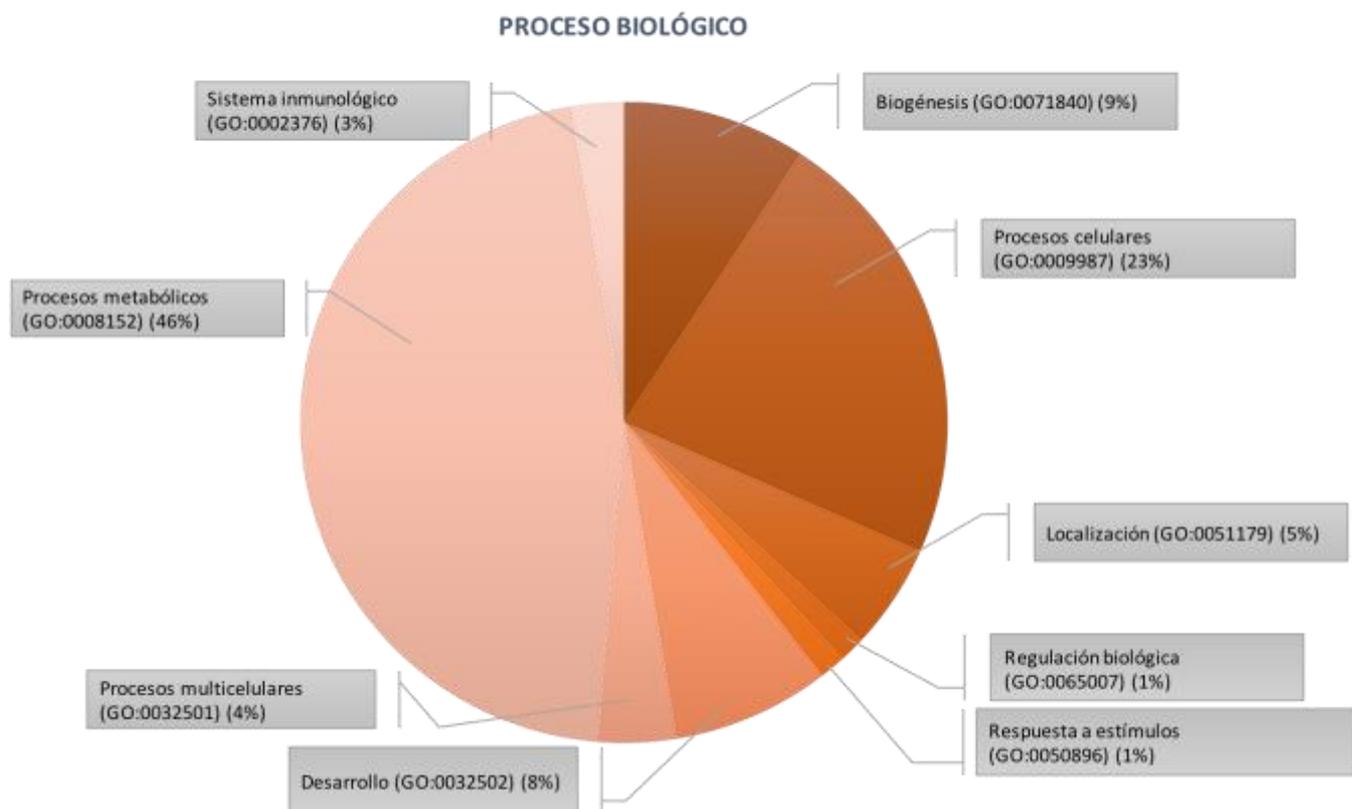
## PROCESOS BIOLÓGICOS



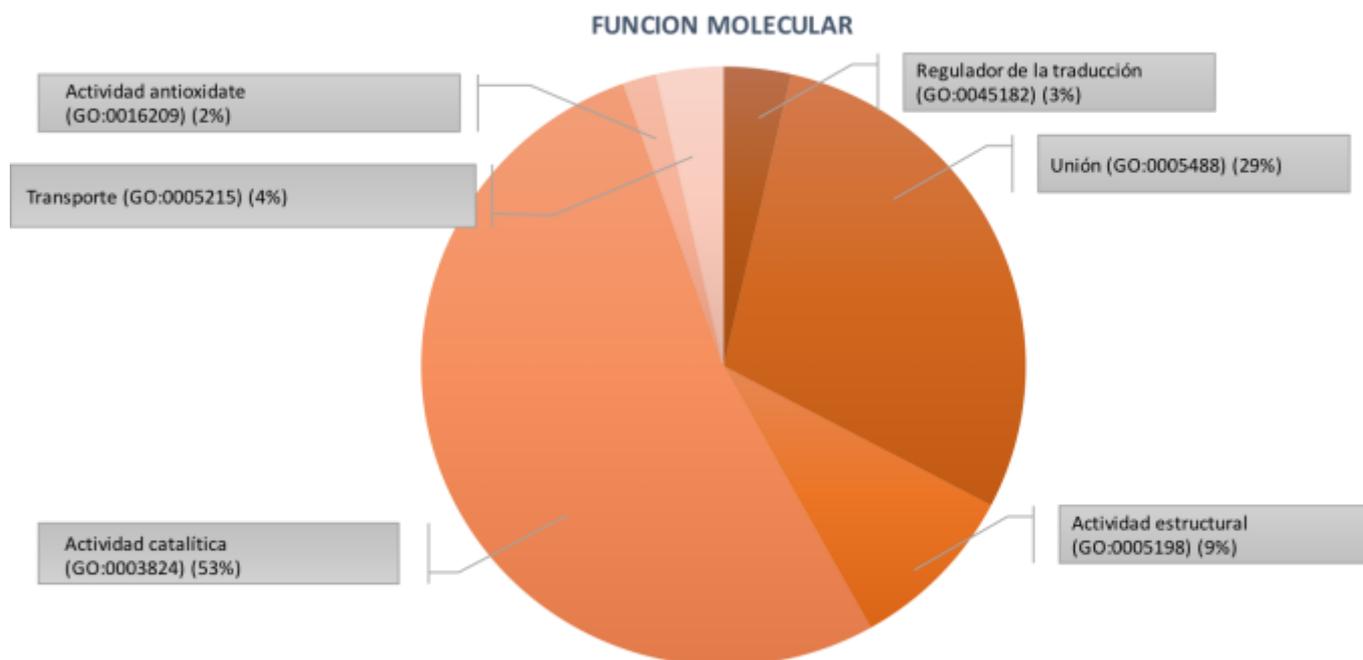
**Figura AIV. 3.** Gráfico circular obtenido mediante Panther sobre los procesos biológicos afectados por el efecto directo de la criopreservación (F1 vs VF1).



**Figura AIV. 4.** Gráfico circular obtenido mediante Panther sobre las funciones moleculares afectadas por el efecto directo de la criopreservación (**F1 vs VF1**).



**Figura AIV. 5.** Gráfico circular obtenido mediante Panther sobre los procesos biológicos afectados por el efecto transgeneracional de la criopreservación (**F2 vs VF2**).



**Figura AIV. 6.** Gráfico circular obtenido mediante Panther sobre las funciones moleculares afectadas por el efecto transgeneracional de la criopreservación (F2 vs VF2).

## ANEJO V

---

## ANEJO V

Este Anejo recoge las tablas que incluyen los términos GO significativamente enriquecidos (p-valor inferior a 0,05) proporcionados por DAVID para las categorías GO evaluadas (“Procesos biológico” y “Función Molecular”) y para cada comparación considerada: **F1 vs F2 (Tabla AV. 1 y AV. 2)**, **F1 vs VF1 (Tabla AV. 3 y AV.4)** y **F2 vs VF2 (Tabla AV. 5 y AV. 6)**. Para cada término GO se incluye su descripción, el número de proteínas con este término GO asociado, el % que representa del total de proteínas del listado y el p-valor obtenido con el enriquecimiento.

**Tabla AV. 1.** Tabla resumen del resultado obtenido mediante DAVID. En ella aparecen los términos GO de la categoría "Proceso Biológico" enriquecidos en el listado de proteínas diferencialmente expresadas de la comparación **F1 vs F2** (efecto de la generación), junto con su descripción, el número de proteínas del mismo que tienen el término en cuestión asociado, el porcentaje que representan del total del listado y el p-valor obtenido en el análisis del enriquecimiento.

Término GO	Descripción	Nº de proteínas <sup>a</sup>	% de proteínas <sup>b</sup>	p-valor
GO:0003094	glomerular filtration	2	3,6	0,028
GO:0006119	oxidative phosphorylation	2	3,6	0,040
GO:0006120	mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone	5	9,1	0,000
GO:0006122	mitochondrial electron transport, ubiquinol to cytochrome c	3	5,5	0,001
GO:0006213	pyrimidine nucleoside metabolic process	2	3,6	0,009
GO:0006633	fatty acid biosynthetic process	4	7,3	0,001
GO:0006637	acyl-CoA metabolic process	3	5,5	0,002
GO:0006805	xenobiotic metabolic process	5	9,1	0,000
GO:0008152	metabolic process	6	10,9	0,000
GO:0019395	fatty acid oxidation	2	3,6	0,043
GO:0032981	mitochondrial respiratory chain complex I assembly	4	7,3	0,001
GO:0046135	pyrimidine nucleoside catabolic process	2	3,6	0,034
GO:0048208	COPII vesicle coating	3	5,5	0,016
GO:0051603	proteolysis involved in cellular protein catabolic process	3	5,5	0,010
GO:0055114	oxidation-reduction process	9	16,4	0,001
GO:0060267	positive regulation of respiratory burst	2	3,6	0,019

<sup>a</sup>Número de proteínas del listado introducido en DAVID que tienen este término asociado.

<sup>b</sup>Número de proteínas/ número total de proteínas del listado introducido.

**Tabla AV. 2.** Tabla resumen del resultado obtenido mediante DAVID. En ella aparecen los términos GO de la categoría "Función Molecular" enriquecidos en el listado de proteínas diferencialmente expresadas de la comparación **F1 vs F2** (efecto de la generación), junto con su descripción, el número de proteínas del mismo que tienen el término en cuestión asociado, el porcentaje que representan del total del listado y el p-valor obtenido en el análisis del enriquecimiento.

Término GO	Descripción	Nº de proteínas <sup>a</sup>	% de proteínas <sup>b</sup>	p-valor
GO:0000166	nucleotide binding	5	9,1	0,021
GO:0003824	catalytic activity	4	7,3	0,019
GO:0003996	acyl-CoA ligase activity	3	5,5	0,000
GO:0004321	fatty-acyl-CoA synthase activity	3	5,5	0,000
GO:0008121	ubiquinol-cytochrome-c reductase activity	2	3,6	0,030
GO:0008137	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	4	7,3	0,000
GO:0009055	electron carrier activity	5	9,1	0,000
GO:0015645	fatty acid ligase activity	3	5,5	0,000
GO:0016405	CoA-ligase activity	2	3,6	0,006
GO:0016787	hydrolase activity	4	7,3	0,020
GO:0047760	butyrate-CoA ligase activity	3	5,5	0,000

<sup>a</sup>Número de proteínas del listado introducido en DAVID que tienen este término asociado.

<sup>b</sup>Número de proteínas/ número total de proteínas del listado introducido.

**Tabla AV. 3.** Tabla resumen del resultado obtenido mediante DAVID. En ella aparecen los términos GO de la categoría "Proceso Biológico" enriquecidos en el listado de proteínas diferencialmente expresadas de la comparación **F1 vs VF1** (efecto directo de la criopreservación), junto con su descripción, el número de proteínas del mismo que tienen el término en cuestión asociado, el porcentaje que representan del total del listado y el p-valor obtenido en el análisis del enriquecimiento.

Término GO	Descripción	Nº de proteínas <sup>a</sup>	% de proteínas <sup>b</sup>	p-valor
GO:0000184	nuclear-transcribed mRNA catabolic process, nonsense-mediated decay	4	6,9	0,007
GO:0002933	lipid hydroxylation	2	3,4	0,019
GO:0006122	mitochondrial electron transport, ubiquinol to cytochrome c	2	3,4	0,048
GO:0006614	SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane	3	5,2	0,038
GO:0006805	xenobiotic metabolic process	6	10,3	0,000
GO:0008202	steroid metabolic process	4	6,9	0,000
GO:0009308	amine metabolic process	2	3,4	0,026
GO:0016098	monoterpenoid metabolic process	2	3,4	0,019
GO:0017144	drug metabolic process	5	8,6	0,000
GO:0019373	epoxygenase P450 pathway	4	6,9	0,000
GO:0042359	vitamin D metabolic process	2	3,4	0,032
GO:0042738	exogenous drug catabolic process	2	3,4	0,039
GO:0045471	response to ethanol	3	5,2	0,046
GO:0046483	heterocycle metabolic process	2	3,4	0,019
GO:0055114	oxidation-reduction process	12	20,7	0,000

<b>GO:0098609</b>	cell-cell adhesion	8	13,8	0,000
-------------------	--------------------	---	------	-------

<sup>a</sup>Número de proteínas del listado introducido en DAVID que tienen este término asociado.

<sup>b</sup>Número de proteínas/ número total de proteínas del listado introducido.

**Tabla AV. 4.** Tabla resumen del resultado obtenido mediante DAVID. En ella aparecen los términos GO de la categoría "Función Molecular" enriquecidos en el listado de proteínas diferencialmente expresadas de la comparación **F1 vs VF1** (efecto directo de la criopreservación), junto con su descripción, el número de proteínas del mismo que tienen el término en cuestión asociado, el porcentaje que representan del total del listado y el p-valor obtenido en el análisis del enriquecimiento.

<b>Término GO</b>	<b>Descripción</b>	<b>Nº de proteínas<sup>a</sup></b>	<b>% de proteínas<sup>b</sup></b>	<b>p-valor</b>
<b>GO:0003924</b>	GTPase activity	4	6,9	0,037
<b>GO:0004497</b>	monooxygenase activity	5	8,6	0,000
<b>GO:0005506</b>	iron ion binding	5	8,6	0,001
<b>GO:0008392</b>	arachidonic acid epoxygenase activity	3	5,2	0,001
<b>GO:0008395</b>	steroid hydroxylase activity	5	8,6	0,000
<b>GO:0008483</b>	transaminase activity	2	3,4	0,040
<b>GO:0008670</b>	2,4-dienoyl-CoA reductase (NADPH) activity	2	3,4	0,009
<b>GO:0016491</b>	oxidoreductase activity	4	6,9	0,025
<b>GO:0016705</b>	oxidoreductase activity, acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen	4	6,9	0,001
<b>GO:0016712</b>	oxidoreductase activity, acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen, reduced flavin or flavoprotein as one donor, and incorporation of one atom of oxygen	4	6,9	0,000
<b>GO:0019166</b>	trans-2-enoyl-CoA reductase (NADPH) activity	2	3,4	0,009
<b>GO:0019825</b>	oxygen binding	5	8,6	0,000
<b>GO:0020037</b>	heme binding	6	10,3	0,000
<b>GO:0032403</b>	protein complex binding	4	6,9	0,027
<b>GO:0044822</b>	poly(A) RNA binding	10	17,2	0,008
<b>GO:0070330</b>	aromatase activity	4	6,9	0,000
<b>GO:0070576</b>	vitamin D 24-hydroxylase activity	2	3,4	0,006
<b>GO:0098641</b>	cadherin binding involved in cell-cell adhesion	8	13,8	0,000

<sup>a</sup>Número de proteínas del listado introducido en DAVID que tienen este término asociado.

<sup>b</sup>Número de proteínas/ número total de proteínas del listado introducido.

**Tabla AV. 5.** Tabla resumen del resultado obtenido mediante DAVID. En ella aparecen los términos GO de la categoría "Proceso Biológico" enriquecidos en el listado de proteínas diferencialmente expresadas de la comparación **F2 vs VF2** (efecto transgeneracional de la criopreservación), junto con su descripción, el número de proteínas del mismo que tienen el término en cuestión asociado, el porcentaje que representan del total del listado y el p-valor obtenido en el análisis del enriquecimiento.

<b>Término GO</b>	<b>Descripción</b>	<b>Nº de proteínas<sup>a</sup></b>	<b>% de proteínas<sup>b</sup></b>	<b>p-valor</b>
<b>GO:0006120</b>	mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone	3	4,5	0,015
<b>GO:0006364</b>	rRNA processing	4	6,1	0,048
<b>GO:0006413</b>	translational initiation	4	6,1	0,015
<b>GO:0006544</b>	glycine metabolic process	2	3	0,034
<b>GO:0006554</b>	lysine catabolic process	2	3	0,045
<b>GO:0006633</b>	fatty acid biosynthetic process	3	4,5	0,017
<b>GO:0006695</b>	cholesterol biosynthetic process	3	4,5	0,009
<b>GO:0007191</b>	adenylate cyclase-activating dopamine receptor signaling pathway	2	3	0,045
<b>GO:0008152</b>	metabolic process	5	7,6	0,004
<b>GO:0046487</b>	glyoxylate metabolic process	3	4,5	0,004
<b>GO:0055114</b>	oxidation-reduction process	9	13,6	0,002
<b>GO:1902600</b>	hydrogen ion transmembrane transport	3	4,5	0,023

<sup>a</sup>Número de proteínas del listado introducido en DAVID que tienen este término asociado.

<sup>b</sup>Número de proteínas/ número total de proteínas del listado introducido.

**Tabla AV. 6.** Tabla resumen del resultado obtenido mediante DAVID. En ella aparecen los términos GO de la categoría "Función Molecular" enriquecidos en el listado de proteínas diferencialmente expresadas de la comparación **F2 vs VF2** (efecto transgeneracional de la criopreservación), junto con su descripción, el número de proteínas del mismo que tienen el término en cuestión asociado, el porcentaje que representan del total del listado y el p-valor obtenido en el análisis del enriquecimiento.

<b>Término GO</b>	<b>Descripción</b>	<b>Nº de proteínas<sup>a</sup></b>	<b>% de proteínas<sup>b</sup></b>	<b>p-valor</b>
<b>GO:0003697</b>	single-stranded DNA binding	3	4,5	0,049
<b>GO:0003988</b>	acetyl-CoA C-acyltransferase activity	2	3	0,015
<b>GO:0005102</b>	receptor binding	6	9,1	0,011
<b>GO:0008483</b>	transaminase activity	2	3	0,048
<b>GO:0009055</b>	electron carrier activity	3	4,5	0,046
<b>GO:0016747</b>	transferase activity, transferring acyl groups other than amino-acyl groups	2	3	0,034
<b>GO:0030170</b>	pyridoxal phosphate binding	3	4,5	0,020
<b>GO:0031698</b>	beta-2 adrenergic receptor binding	2	3	0,015
<b>GO:0032403</b>	protein complex binding	4	6,1	0,043
<b>GO:0044822</b>	poly(A) RNA binding	14	21,2	0,000

<sup>a</sup>Número de proteínas del listado introducido en DAVID que tienen este término asociado.

<sup>b</sup>Número de proteínas/ número total de proteínas del listado introducido.