Koń domowy (*Equus caballus*) charakteryzuje się sezonowością rozrodu. Klacze wykazują objawy rujowe wraz z wydłużaniem się dnia świetlnego, natomiast aktywność układu rozrodczego ogiera obserwuje się w ciągu całego roku. Dostrzegalne są jednak różnice w jakości pozyskiwanego nasienia pomiędzy okresem określanym mianem sezonu rozrodczego tj. kwiecień-wrzesień, a miesiącami jesienno-zimowymi. Poza sezonem rozrodczym spada koncentracja, obniżają się parametry ruchliwości i żywotności plemników oraz zmniejsza się objętość ejakulatu. Niejednokrotnie w hodowli koni sportowych zdarzają się nagłe wypadki, które eliminują wybitne osobniki z dalszej hodowli. W związku z tym rośnie zainteresowanie wykorzystaniem plemników najądrzowych, będących rezerwuarem materiału genetycznego w inseminacji klaczy przeznaczonych do rozrodu. Analiza porównawcza ruchliwości oraz morfologii plemników najądrzowych i ejakulowanych nie wykazała istotnych różnic pomiędzy nimi, co daje możliwość wykorzystania materiału najądrzowego w przypadku nagłej śmierci wybitnych osobników lub w sytuacji przymusowej kastracji.

Najądrze ogiera dzieli się anatomicznie na trzy segmenty: głowę, która pełni głównie funkcję wydzielniczą, a znajdujące się w niej plemniki są fizjologicznie niedojrzałe i nie posiadają zdolności zapładniających oraz trzon i ogon najądrzy, które pełnią funkcję magazynu tych komórek. Specyficzne środowisko trzonu i ogona najądrzy utrzymuje żywotność plemników, chroni je przed uszkodzeniami wywoływanymi między innymi stresem oksydacyjnym, stanem zapalnym oraz temperaturą. Wszystkie zmiany biochemiczne i morfologiczne, jakim podlegają komórki rozrodcze w przewodzie najądrzy, określane są mianem dojrzewania najądrzowego. Dotyczą one reorganizacji w składzie lipidów i białek błonowych, które wynikają ze zmian rozmieszczenia lub usuwania niektórych komponentów podczas działania enzymów proteolitycznych, enzymów rozkładających reszty oligosacharydowe oraz przyłączania białek syntetyzowanych de novo w najądrzach. Jedną z reakcji o szczególnie istotnej roli w procesie dojrzewania plemników jest fosforylacja białek znajdujących się w środowisku najądrzy. Fosforylacja jest procesem regulującym aktywność i funkcję polipeptydów. Ufosforylowane białka pełnią rolę regulatorów aktywności komórek, kontrolują ich metabolizm, wzrost czy apoptozę.

W dostępnej literaturze brak jest danych dotyczących intensywności fosforylacji białek nasienia najądrzowego ogiera, jak również nie ma informacji na temat identyfikacji fosfoprotein płynu i plemników najądrzowych. Stosując techniki proteomiczne podjęto badania, których celem była charakterystyka fosfoproteomu nasienia najądrzowego ogiera z uwzględnieniem różnych okresów sezonu reprodukcyjnego.

Materiał doświadczalny, czyli najądrza 12 ogierów ras gorącokrwistych, pozyskiwano podczas rutynowych zabiegów kastracji w dwóch okresach sezonu rozrodczego. Wyizolowane metodą chromatografii powinowactwa do jonów metali fosfoproteiny rozdzielano metodą elektroforezy 1D-PAGE, następnie poddawano identyfikacji z wykorzystaniem techniki spektrometrii mas NanoLC-MS/MS. Dodatkowo wykonano analizę stopnia fosforylacji białek przy pomocy metody immunoblottingu.

Analiza fosfoproteomu płynu najądrzowego pobranego w trakcie sezonu rozrodczego, przeprowadzona z wykorzystaniem elektroforezy jednokierunkowej, wykazała obecność 10 wspólnych frakcji dla każdego z segmentów najądrzy (o masach cząsteczkowych 76, 66, 58, 55, 49, 47, 44, 34, 31 i 22 kDa). Dwie frakcje występowały w głowie i trzonie najądrzy (136 i 92 kDa), natomiast jedną odnotowywano głównie w odcinku ogona najądrzy (116 kDa). Natomiast profile fosfopeptydów wyizolowanych poza sezonem rozrodczym wykazały obecność trzech fosfoprotein w głowie i trzonie najądrzy (136, 128 i 92 kDa). Ponadto 15 białek było obecnych we wszystkich segmentach najądrzy (76, 66, 58, 55, 49, 44, 34, 31, 29, 25, 24, 22, 19, 15 i 14 kDa). Wykazano również, że 14 frakcji ulega fosforylacji zarówno podczas jak i poza sezonem rozrodczym (136, 128, 116, 92, 76, 66, 58, 55, 53, 49, 47, 44, 38, 34, 31, 29, 25 i 24 kDa). Największą liczbę frakcji fosfoproteinowych wykazano w ekstraktach z plemników pobranych z głowy i trzonu najądrzy w sezonie i poza sezonem rozrodczym. Z kolei poza sezonem rozrodczym zaobserwowano spadek liczby ufosforylowanych białek w każdym segmencie najądrzy. Zaobserwowano 28 frakcji fosfoproteinowych (280, 160, 150, 110, 100, 83, 75, 73, 70, 61, 57, 50, 48, 44, 41, 35, 32, 31, 29, 26, 25, 24, 23, 22, 17, 16, 15 i 12 kDa), których obecność była zróżnicowana między osobnikami i segmentami najądrzy.

Zidentyfikowane w niniejszej pracy białka, zwłaszcza enzymy antyoksydacyjne (m.in. ceruloplazmina, peroksyredoksyna -1, -2, -5, serotransferyna, S-transferaza glutationowa mu5) oraz białka szoku termicznego (HSP-70, HSP β1,) pełnią istotną rolę w regulacji procesów reprodukcyjnych ogiera. Dotyczy to przede wszystkim ochrony układu rozrodczego przed reaktywnymi formami tlenu, regulacji procesu spermatogenezy oraz dojrzewania plemników w najądrzach. Charakterystyka fosfoproteomu nasienia najądrzowego ogiera może pomóc w wyjaśnieniu molekularnych mechanizmów regulujących procesy reprodukcyjne tego gatunku. Stanowi również uzupełnienie wiedzy z zakresu dojrzewania komórek rozrodczych zwierząt gospodarskich.