



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

## **REPORTE ENTREGA DEL**

**Project\_ALHernandez\_2021\_08\_24\_10\_55\_52**

**ENERO 2022**

**Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva y Bioinformática**



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

---

<b>IDENTIFICACIÓN DEL REPORTE O PROYECTO</b>	<b>3</b>
<b>IDENTIFICACIÓN DEL USUARIO Y COLABORADORES:</b>	<b>3</b>
<b>DESCRIPCIÓN HISTÓRICA DE LAS MUESTRAS</b>	<b>4</b>
<b>DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA</b>	<b>5</b>
CUANTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS	5
PREPARACIÓN DE LAS BIBLIOTECAS	6
SECUENCIACIÓN DE LAS MUESTRAS	7
<b>REPORTE DE CALIDAD</b>	<b>7</b>
<b>ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO</b>	<b>7</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>7</b>
<b>EVALUACIÓN DEL SERVICIO</b>	<b>7</b>

El presente documento es un reporte de entrega del proyecto descrito en el siguiente segmento y asegura que la UUSMB está comprometida con la imparcialidad y la confidencialidad de los datos aquí descritos:



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

---

## IDENTIFICACIÓN DEL REPORTE O PROYECTO

ID del proyecto:

Project\_ALHernandez\_2021\_08\_24\_10\_55\_52

Nombre del proyecto:

Project\_KJuarez\_2021\_RNAseq

Descripción:

Eliminación de rRNA's por ribominus

Construcción de biblioteca de cDNA

Secuencia de bibliotecas de cDNA

Fecha de solicitud:

2021-08-24

Fecha de informe

2021-12-30

Fecha de Análisis

2021-12-30

Número de muestras:

1

## IDENTIFICACIÓN DEL USUARIO Y COLABORADORES:

En esta sección se describen los responsables y colaboradores ligados a este proyecto:



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

User	Nombre	Dependencia	teléfono	email	role
ALHernandez	Alberto Hernandez Eligio	Instituto de Biotecnología (IBt)		alherel@ibt.unam.mx	Responsable

#### DESCRIPCIÓN HISTÓRICA DE LAS MUESTRAS

En esta sección se definen los identificadores únicos de cada muestra, su nombre, identificación del tubo, fecha de recepción, fecha de análisis de calidad y evaluación de Aceptación:

Numero consecutivo	Nombre de la Muestra	Identificador del tubo	Fecha de recepción	Fecha análisis calidad	Estatus de aceptación
10952	ALHernandez_210824_GSU177 1a	1	2021-08-24	2021-10-07	Aceptada

En esta sección se define el volumen reportado por el usuario y el volumen y concentración encontrados por los miembros de la unidad:

Número consecutivo	Nombre de la Muestra	Identificador del tubo	vol(μL) usuario	vol(μL) uusmb	concentracion total (ng)
--------------------	----------------------	------------------------	-----------------	---------------	--------------------------



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

---

10952	ALHernandez_210824_GSU1771a	1	30	10.0	312.0
-------	-----------------------------	---	----	------	-------

---

En esta sección se reportan los valores de absorbancia reportados por el usuario y los encontrados por la Unidad. El tipo de muestra, rendimiento esperado y observaciones o comentarios

Numero	Nombre de la muestra	Identificación del tubo	abs usuario		abs uusmb		tipo	rendimiento	comentario
			200_200 1.8 a 2	200_230 1.8 a 2	200_200 2 a 2.2	200_230 2 a 2.2			
10952	ALHernandez_210824_GSU1771a	1	2.13	0.83			RNA		

## DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA.

### • CUANTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras originales fueron cuantificadas utilizando el RNA Nano 6000 Kit de la compañía Agilent en el Bioanalyzer 2100 también de la compañía Agilent. La construcción de las bibliotecas se realizó siguiendo el protocolo de TruSeq Stranded mRNA Sample Preparation Kit de la compañía Illumina.

### • PREPARACIÓN DE LAS BIBLIOTECAS



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

---

La construcción de las bibliotecas se realizó utilizando el TruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit, siguiendo a detalle el protocolo sin ninguna modificación. Se adicionó un paso final de purificación de las bibliotecas a través de un gel de Low Range Agarose al 1.5%. Posteriormente, las bibliotecas fueron analizadas para determinar el tamaño promedio de cada biblioteca, a través de un ensayo de electroforesis en capilar utilizando un equipo Bioanalyzer 2100 de la compañía Agilent, utilizando un chip de DNA 1000. Las bibliotecas analizadas, fueron cuantificadas utilizando el Qubit dsDNA HS Assay Kit en un fluorómetro DeNovix DS-11 o Qubit. Ya cuantificadas por fluorescencia, las muestras se volvieron a cuantificar en esta ocasión a través de una reacción de qPCR, utilizando el 2x SYBR Green qPCR Master Mix (High ROX) de la compañía Bimake.com en un equipo Step One de la compañía Applied Biosystems.

- SECUENCIACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras cuantificadas por qPCR, se normalizaron a una concentración de 4 nM y se hizo una mezcla de todas las bibliotecas a secuenciarse en una sola dilución. Se prepararon 1.5 ml de la solución con las bibliotecas a una concentración de 1.8 pM para cargar en el equipo de secuenciación. La secuencia se realizó en un equipo de secuenciación NextSeq 500 de la compañía Illumina, utilizando un NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5 de 150 cycles para una secuencia de 2x75 ciclos.

## REPORTE DE CALIDAD

El siguiente reporte de calidad reporta el % de GC, rendimiento y % de nucleótidos por base:

<http://www.sisbi-sin-liga.com>



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

En este reporte se aprecia que el rendimiento quedó primer comentario de secuencias solicitadas. Como resultado de la revisión de estos reportes de calidad, y dado que el promedio de calidad se encuentra para todas las muestras a lo largo de todas las secuencias por arriba de Q30, el porcentaje de GC se apega al teórico y los porcentajes de nucleótidos a lo largo de todas las bases se comparten dentro de lo esperado, no se realizó ninguna limpieza por calidad o de adaptadores o para eliminar secuencias repetidas.

## ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE EXPRESIÓN DIFERENCIAL

El análisis bioinformático inicio con el alineamiento pareado de las 1 muestras vs el , . de , mismo que fue indexado con un k-mero de tamaño y un step de para el programa de alineamiento de secuencias cortas . Luego llevamos a cabo el alineamiento, con el programa solicitando un porcentaje de semejanza de . Se marcaron los duplicados ópticos usando MarkDuplicates VN:2.18.14-SNAPSHOT. Luego se realizó el cálculo de coberturas usando el programa . de coberturas .

Estas coberturas se subieron al sitio <http://www.uusmb.unam.mx/ideamex/> para realizar el análisis de expresión diferencial y se solicitaron las comparaciones:

.

### Definir comparaciones

Control

mettl3

control



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

---

mettl3

Para reportar los resultados se utilizaron como líneas de corte un FDR o pvalue menor a , una magnitud de cambio superior a (LogFC >= ) y una cuenta por Millon igual a (CPM= ).

Se aplicaron 4 métodos de análisis de expresión diferencial:

- [edgeR Results](#)
- [DESeq2 Results](#)
- [limma Results](#)
- [NOISeq Results](#)

## RESULTADOS

Los resultados se encuentran disponibles en la liga de IDEAmex: Para la tabla solo con los transcritos principales se encuentra en . En la sección de análisis de datos, en la gráfica , podemos observar una muy buena distancia entre los grupos a comparar. En la gráfica de , con las muestras ya normalizadas, se observan todas las réplicas con distribuciones muy semejantes, cosa que se corrobora con la .

Dentro de cada una de las carpetas:

- 
-





Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

- 
- -

Encontrará los archivos que contienen en la primera columna los identificadores de todos transcritos con los valores de expresión diferencial diferente de cero, seguido de los parámetros de cada método seleccionado, y luego las cuentas crudas y normalizadas para cada réplica de cada muestra.

Los archivos siguientes, contienen sólo aquellos genes con una magnitud de cambio mayor a ( $\text{LogFC} > \quad$ ). y un  $p\text{value} < \quad$ , para aquellos genes con cuentas por millón  $> (\text{CPM} > \quad)$ :

Cada método puede generar una lista de genes que pueden coincidir o no, con los otros métodos. en los archivos siguientes están aquellos genes que fueron reportados como diferencialmente expresados por EdgeR y algún otro método:

En la sección , se hace un análisis de integrativo de los resultados dados por cada método, para cada par de muestras comparadas.



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

Si quisieran revisar todos los resultados pueden consultarlos en:

ultimo comentario

## EVALUACIÓN DEL SERVICIO

Como parte de nuestro proceso de mejora, sería muy útil para nosotros saber su opinión sobre nuestro servicio, por lo que agradeceremos nos retroalimenta vía el cuestionario:

[Encuesta de satisfacción](#)

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre	Karla Leslie Matias valdez	SISBI UUSMB	Karel Estrada
Firma			



Laboratorio Nacional de Apoyo a las ciencias Genómicas  
Unidad Universitaria de secuenciación Masiva  
Instituto de Biotecnología de la UNAM  
Av. Universidad 2001, Cuernavaca Morelos  
[uusmb@ibt.unam.mx](mailto:uusmb@ibt.unam.mx)  
777-3291777

Código:  
F01\_PT05\_LNATCG

Versión 1

<b>Fecha</b>	2021-12-30	2022-01-03	2022-01-03

Nota: La representatividad de la muestra no es responsabilidad del laboratorio ya que no realizamos muestreo. Queda prohibida la reproducción parcial de este reporte.