# DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA

### • CUANTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se realizó la extracción de RNA con el kit Zymobiomics RNA Miniprep Kit. Posteriormente las muestras fueron analizadas en un BioAnalyzer para RNA total de Eucarionte. La construcción de las bibliotecas se realizó usando el protocolo de construcción de TruSeq stranded mRNA.

### • PREPARACIÓN DE LAS BIBLIOTECAS

Se tomó la cantidad de un μg de RNA total de cada muestra, se realizó la captura de mensajeros y posteriormente de fragmentó durante 8 minutos a 94 ºC con 18 μl de la solución Fragment mix. El protocolo se continuó hasta su enriquecimiento de PCR de 15 ciclos. Para finalizar, las muestras se purificaron con perlas Ampure XP 1X.

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. Ya cuantificadas por fluorescencia, las muestras se volvieron a cuantificar en esta ocasión a través de una reacción de qPCR, utilizando el Therma Scientific Maxima SYBR green/ROX qPCR Master Mix (2x) en un equipo Step One de la compañía Applied Biosystems.

### • SECUENCIACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron cuantificadas por qPCR, se normalizaron a una concentración de 4 nM y se hizo una mezcla de todas las bibliotecas en una sola dilución para secuenciarse. 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. Se utilizaron 1.5 ml de la solución con las bibliotecas a una concentración de 1.8 pM para cargar en el equipo de secuenciación. La corrida fue la FIELDBDj.