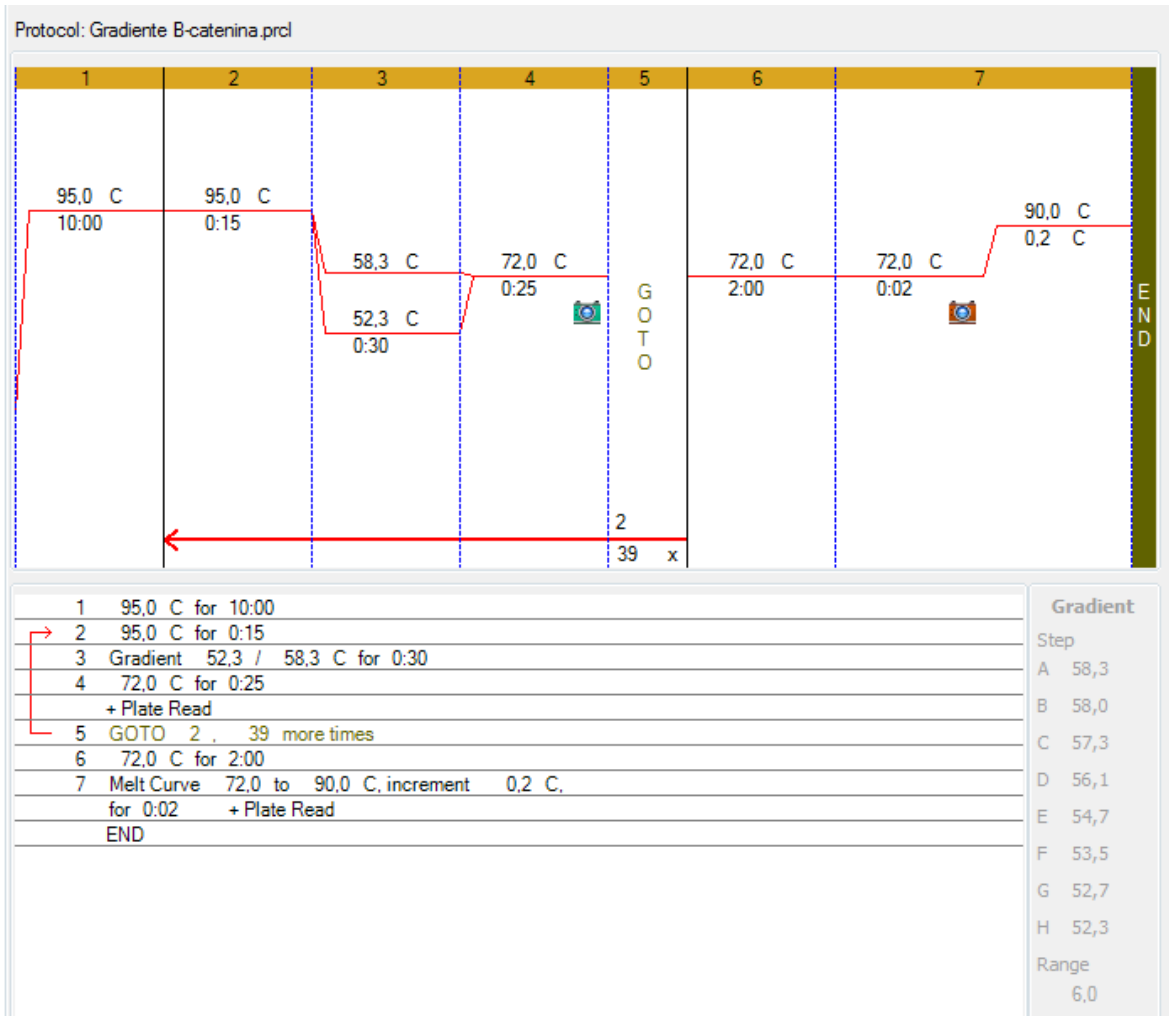


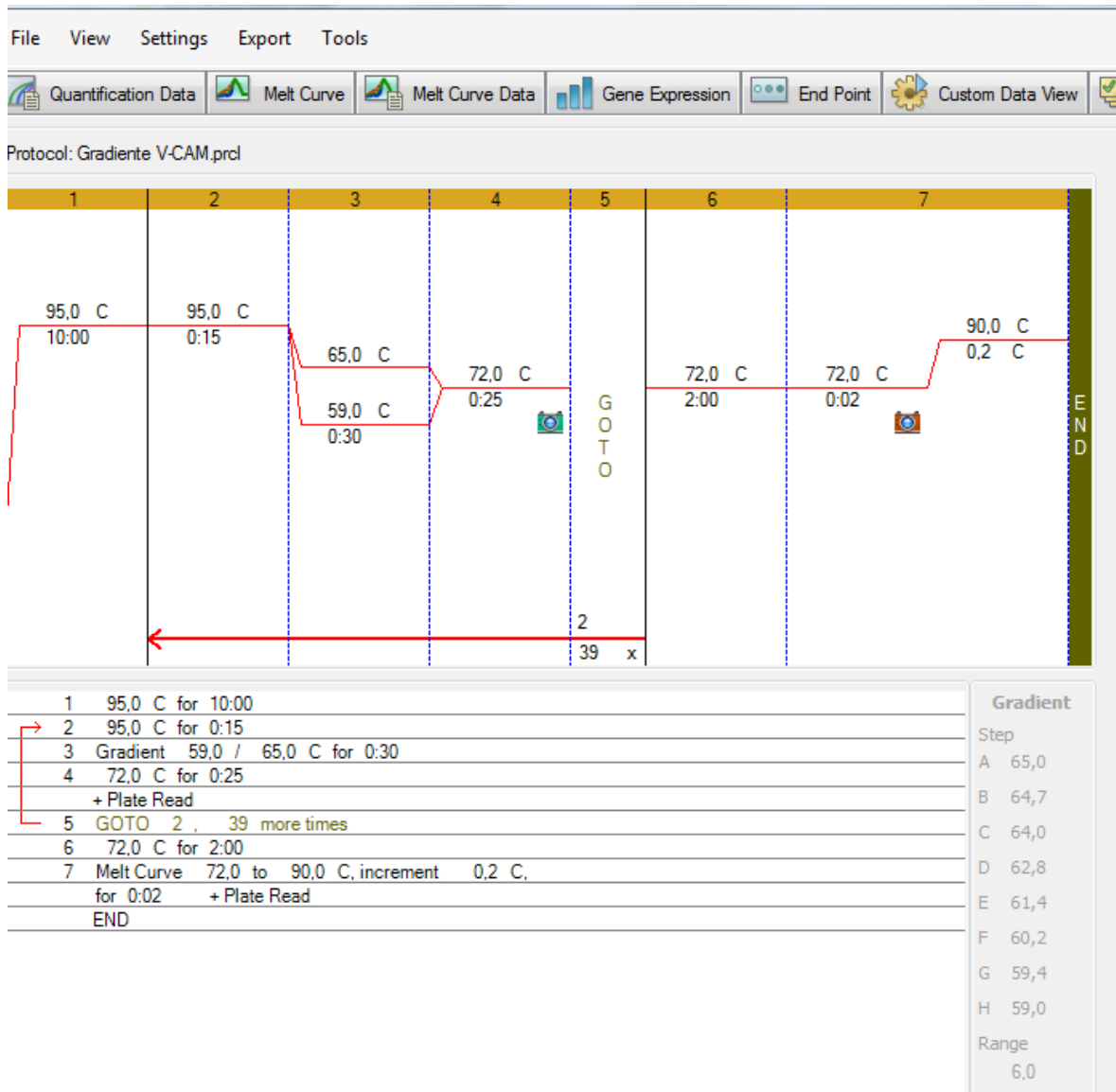
ANEXO A. Material complementario del trabajo de grado

Figura 1. Estandarización RT-qPCR

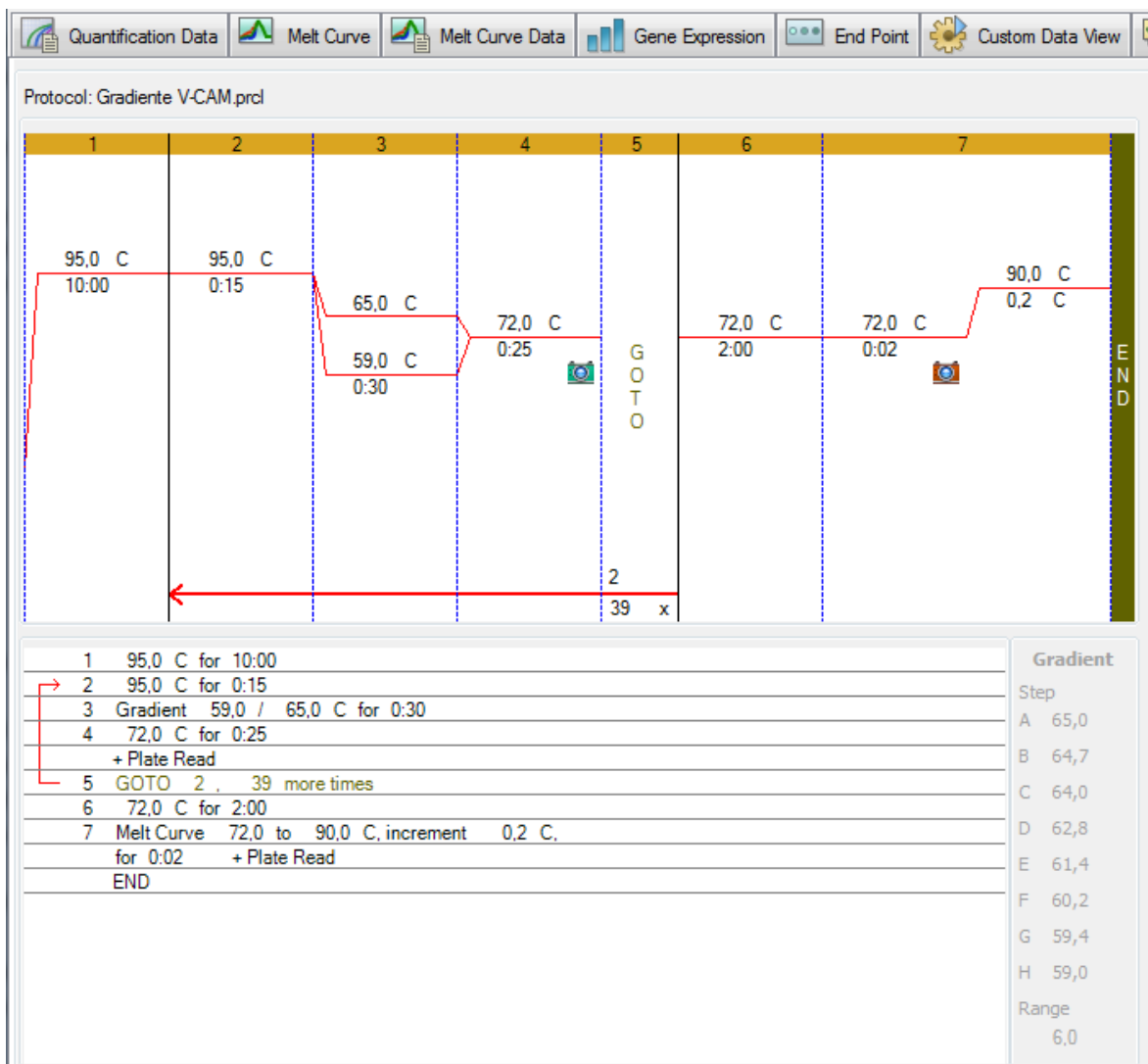
(a) Gradiente de temperaturas β -catenina:



(b)Gradiente de temperaturas ICAM-1:



c) Gradiente de temperaturas VCAM-1:



(d) Temperaturas escogidas

Molécula	Temperatura
β -catenina	56°
ICAM-1	60°
VCAM-1	58°

Como se mencionó en el manuscrito, al principio del trabajo se había planteado la evaluación de las moléculas de adhesión E-selectina y E-cadherina. La molécula E-selectina no pudo ser estandarizada por diferentes asuntos técnicos. Por otro lado,

E-cadherina tuvo una buena estandarización al principio del proceso, aunque, por motivos de pandemia, se cambió de laboratorio para continuar los ensayos de PCR en otro termociclador. El cambio de equipo generó problemas con la curva *melting*, por lo que se intentaron cambios en el protocolo con el fin de mejorar los resultados, sin embargo, no se logró obtenerlos. Se procedió entonces a remitir las muestras de cDNA al primer laboratorio donde se trabajó y las muestras no amplificaron.

Se adjuntan imágenes que evidencian el proceso:

Figura 2. Estandarización de E-selectina

(a) Análisis de los primers de E-selectina:

Input PCR template: none
 Specificity of primers: Target templates were found in selected database: Refseq mRNA (Organism limited to Homo sapiens)
 Other reports: [Search Summary](#)

— Detailed primer reports

Primer pair 1

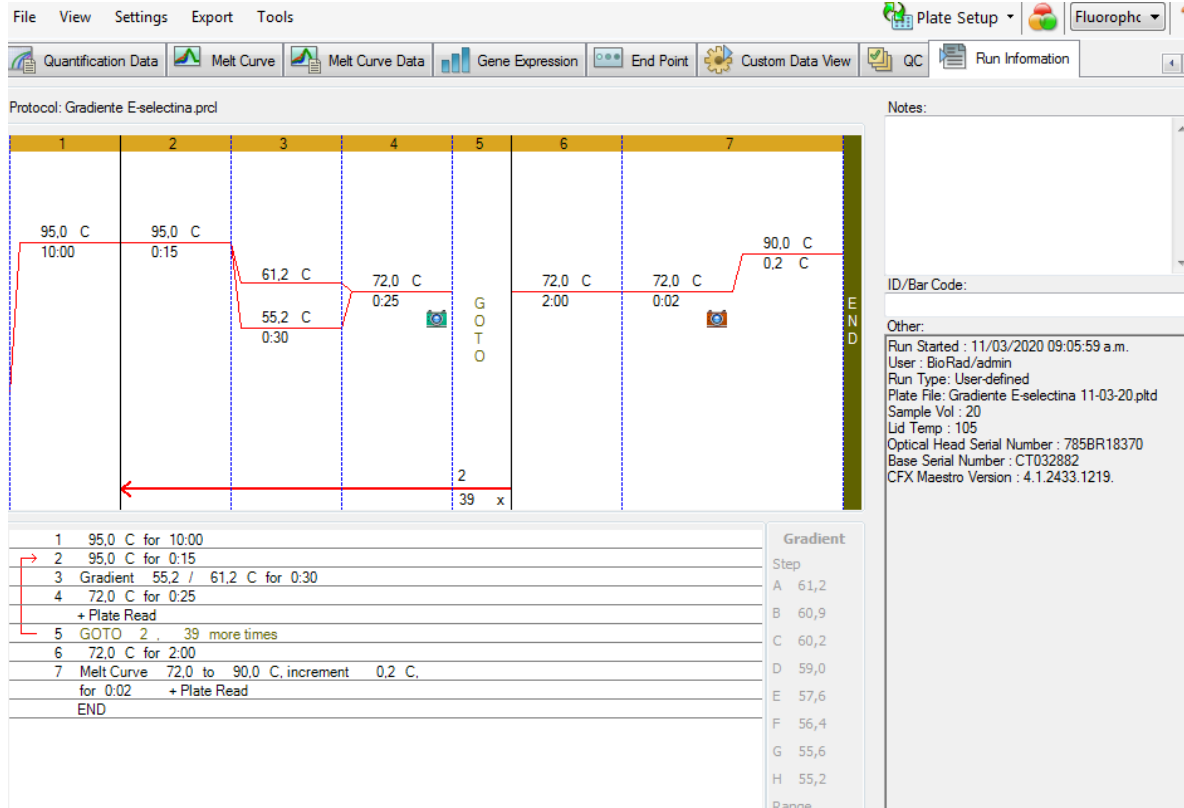
	Sequence (5'→3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GGCAGTGGACACAGCAAATC	20	59.76	55.00	6.00	0.00
Reverse primer	TGGACAGCATCGCATCTC	18	57.16	55.56	2.00	2.00

Products on target templates
[>NM_000450.2](#) Homo sapiens selectin E (SELE), mRNA

product length = 244
 Forward primer 1 GGCAGTGGACACAGCAAATC 20
 Template 1215 1234

Reverse primer 1 TGGACAGCATCGCATCTC 18
 Template 1458 1441

(b) Gradiente de E-selectina:



(c) Resultados gradiente de E-selectina:

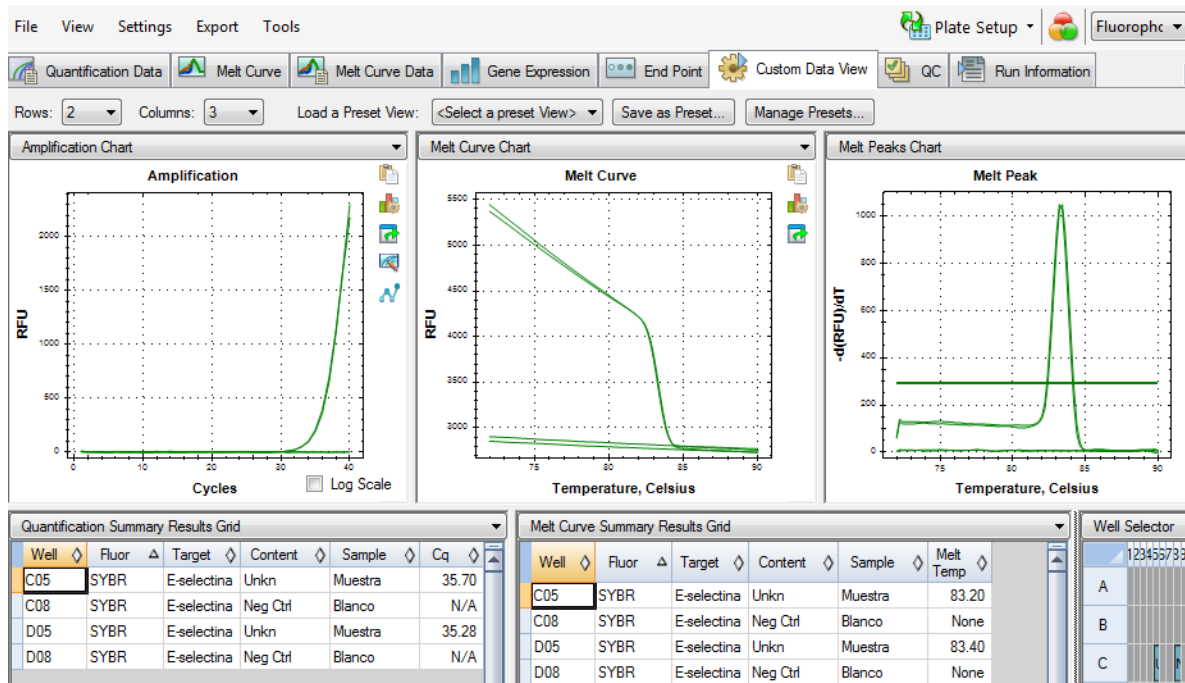


Figura 3: Estandarización de E-cadherina

(a)Análisis de los primers de E-cadherina:

Input PCR template none
 Specificity of primers Target templates were found in selected database: Refseq mRNA (Organism limited to Homo sapiens)
 Other reports [Search Summary](#)

— Detailed primer reports

Primer pair 1

	Sequence (5'->3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	AAGGAGGCGGAGAAGAGGAC	20	60.97	60.00	2.00	1.00
Reverse primer	CGTCGTTACGAGTCACTTCAGG	22	60.97	54.55	7.00	1.00

Products on target templates
[>NM_001317185.2](#) Homo sapiens cadherin 1 (CDH1), transcript variant 3, mRNA

```

product length = 87
Forward primer 1 AAGGAGGCGGAGAAGAGGAC 20
Template 2464 ..... 2483

Reverse primer 1 CGTCGTTACGAGTCACTTCAGG 22
Template 2550 ..... 2529
    
```

[>NM_001317186.2](#) Homo sapiens cadherin 1 (CDH1), transcript variant 4, mRNA

```

product length = 87
Forward primer 1 AAGGAGGCGGAGAAGAGGAC 20
Template 2251 ..... 2270

Reverse primer 1 CGTCGTTACGAGTCACTTCAGG 22
Template 2337 ..... 2316
    
```

[>NM_001317184.2](#) Homo sapiens cadherin 1 (CDH1), transcript variant 2, mRNA

```

product length = 87
Forward primer 1 AAGGAGGCGGAGAAGAGGAC 20
Template 2214 ..... 2233

Reverse primer 1 CGTCGTTACGAGTCACTTCAGG 22
Template 2300 ..... 2279
    
```

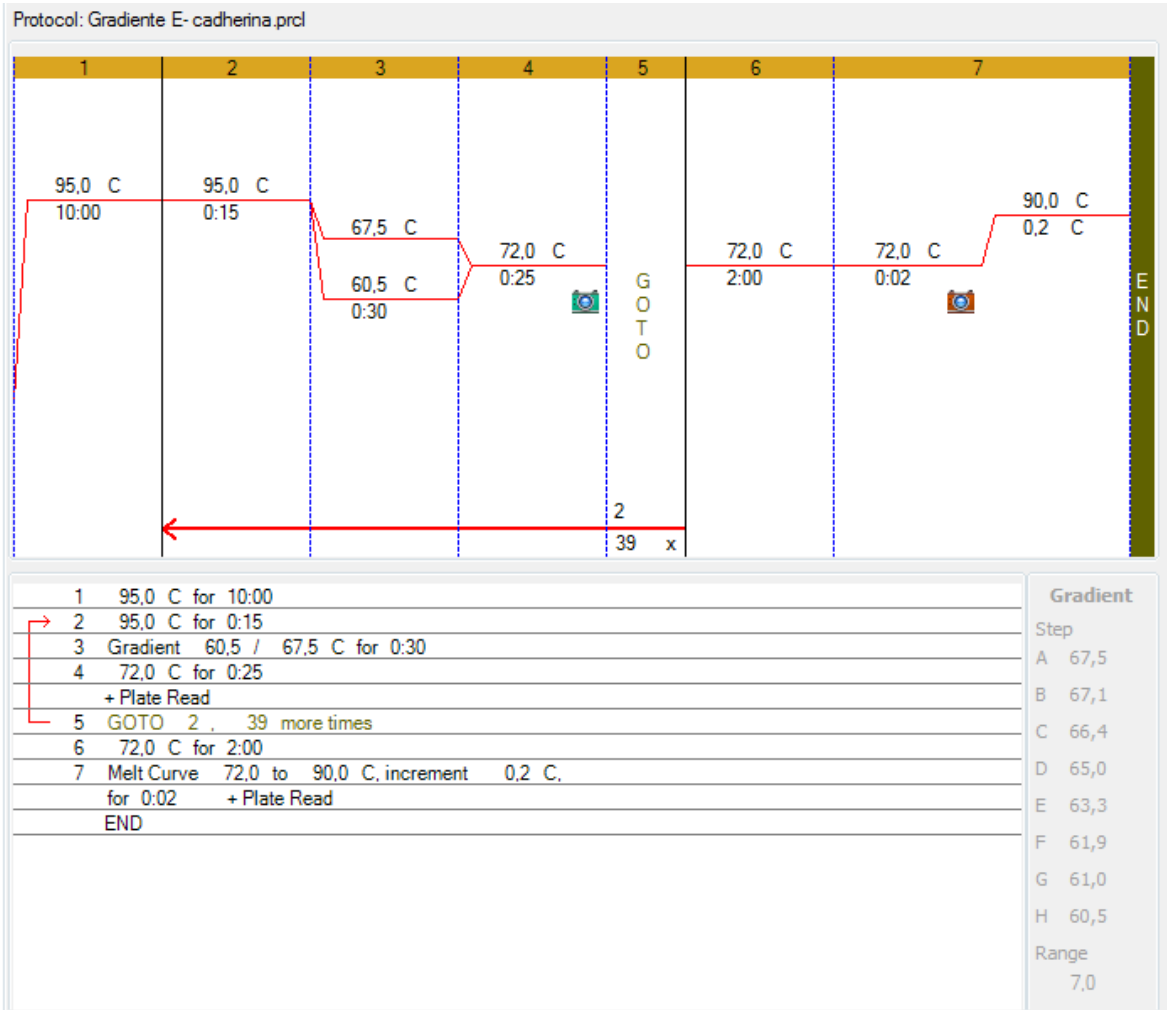
[>NM_004360.5](#) Homo sapiens cadherin 1 (CDH1), transcript variant 1, mRNA

```

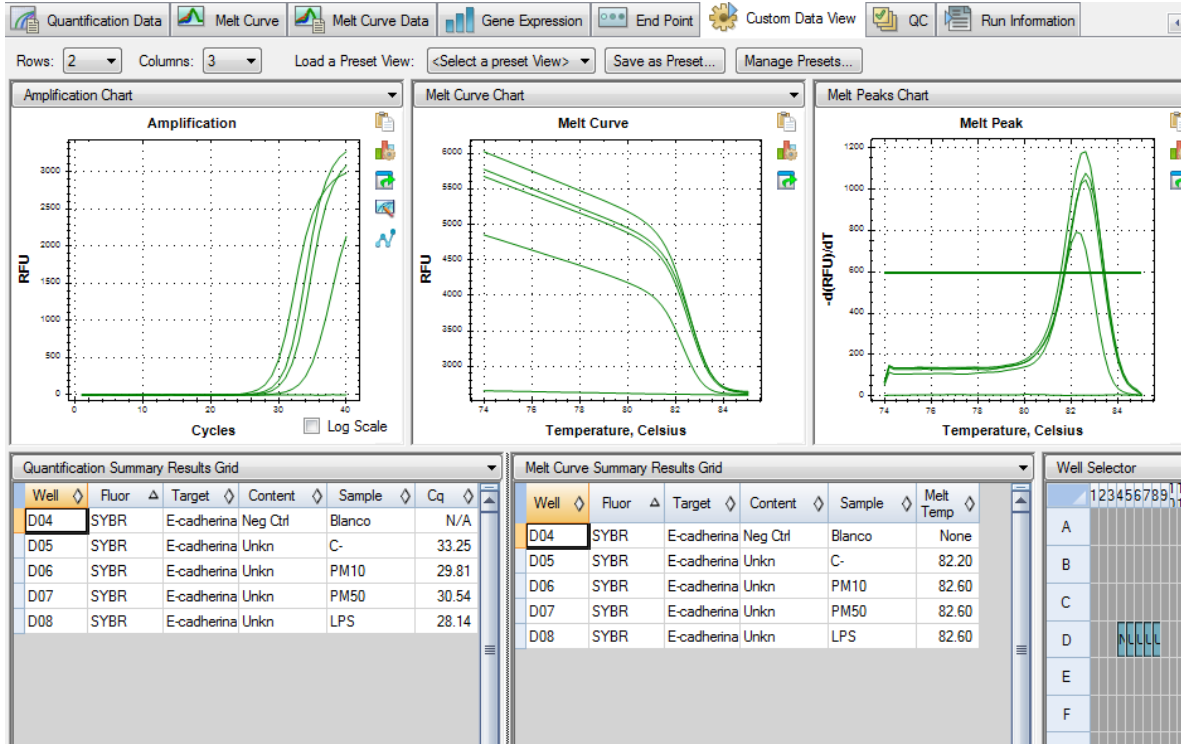
product length = 87
Forward primer 1 AAGGAGGCGGAGAAGAGGAC 20
Template 2397 ..... 2416

Reverse primer 1 CGTCGTTACGAGTCACTTCAGG 22
Template 2483 ..... 2462
    
```

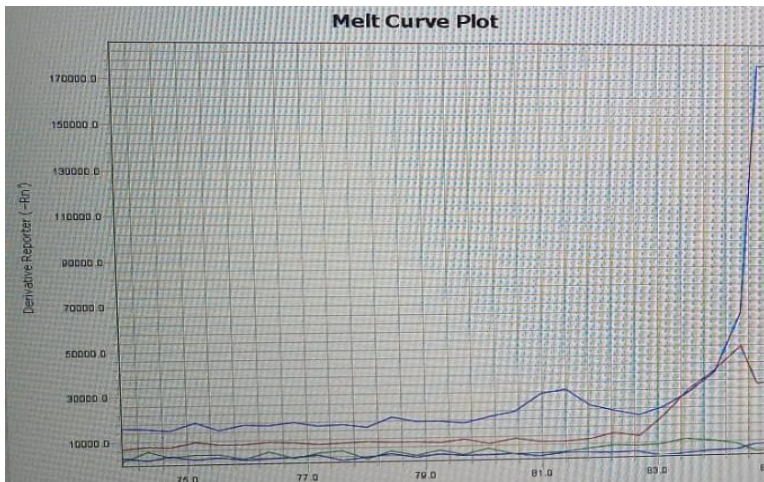
(b)Gradiente E-cadherina



(d) Resultados E-cadherina primer laboratorio



(e) Resultados E-cadherina segundo laboratorio



(f) Resultados E-cahderina segundo laboratorio

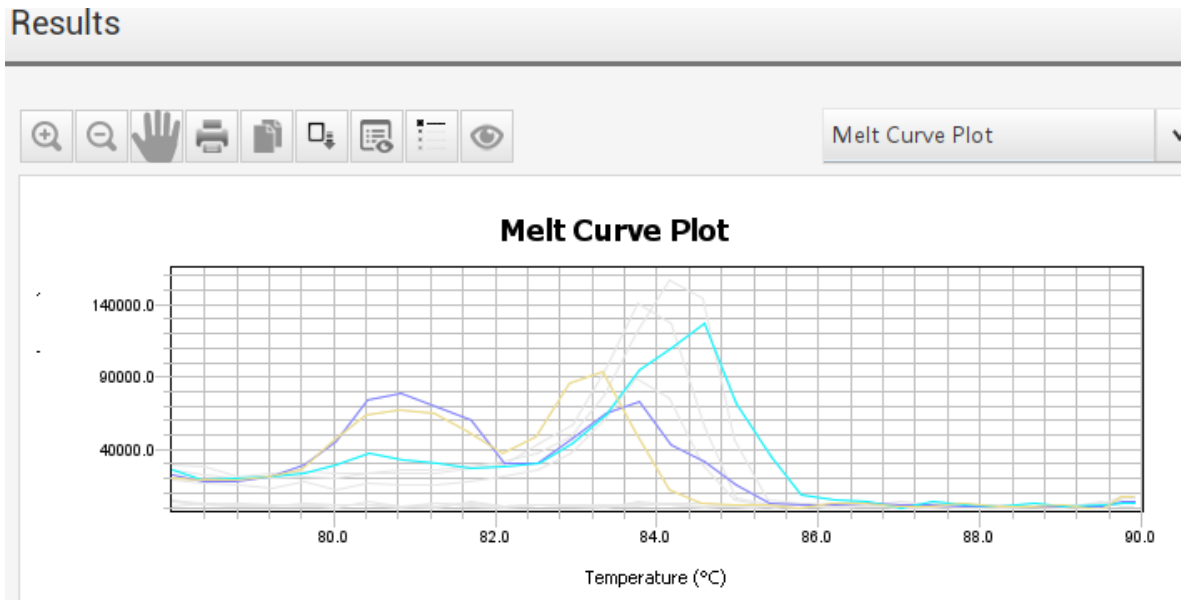


Figura 4. Cuantificación de óxido nítrico en PBMC. La concentración de óxido nítrico en sobrenadantes de cultivos de PBMC estimuladas con Rhinovirus y PM10 por 24 horas, fue cuantificada por espectrofotometría a 540nm, y usando el reactivo de Griess. Células sin tratamiento fueron usadas para normalizar las veces de cambio.

