

Anexo 3. Sincronización de *C. elegans*

Se deben recolectar los gusanos en la etapa adulta, utilizando Buffer M9 y transfiriendo el contenido a microtubos tipo Eppendorf. Posteriormente se realiza un primer lavado con 1 mL de NaOH (1N) a los gusanos, se agita con vórtex durante 30 segundos y se centrifuga a 4000 RPM por 1 min a 4°C. Se retira el NaOH 1 N, y se resuspenden los gusanos en dos ocasiones con 500 µL de NaOH 1 N y 500 µL de hipoclorito de sodio. Se vuelve a agitar con vórtex y a centrifugar con las mismas condiciones.

Una vez realizados los pasos anteriores, se debe lavar el precipitado con mucho cuidado en 5 ocasiones con 1 mL de Buffer M9. En este punto ya no se agita con vórtex y entre cada lavado se centrifuga a 5500 RPM por 1 min a 4°C.

Tras el último lavado, diluir el precipitado en tubos tipo Falcon, los cuales se dejan en agitación durante toda la noche. Al día siguiente se observa al microscopio si todos los huevecillos eclosionaron. Si es así, centrifugar el tubo, a 4000 RPM durante 1 min a 4°C, retirar el sobrenadante y sembrar los gusanos en una caja de NGM con alimento.