

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [GD]FiPS-4F-21c EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES.

ANEXOS

Anexo 1: Informe independiente del análisis microbiológico [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 2: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 3: Cariotipo [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 4: Diferenciación *in vitro* [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 5: Diferenciación *in vivo* [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 6: Genotipación de la línea [GD]FiPS-4F-21c



Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Anexo 1

Informe independiente del análisis microbiológico

Peticció : 88930
NO INDUSTRIA
MUTUA

H: //GL59184306

C. MEDICINA REGENERATIVA DE BA
D.N.I. :
Edat : T.F.: Global
Data extracció : 06-11-12

[GD] FiPS 4F-21c, p28

[GD] FiPS 4F-21c p28

MYCOPLASMES/UREAPLASMES UROGENITALS : CULTIU EN MOSTRA

Mostra : MOSTRA

RESULTAT No s'observa creixement

CULTIU

Tècnica : Cultiu en medis de enriquiment i selectius.

MOSTRA : MOSTRA

RESULTAT No s'observa creixement

CULTIU MICOLÒGIC

MEDI D'AÏLLAMENT I CULTIU : Agar Sabouraud amb Gentamicina i Cloranfenicol.

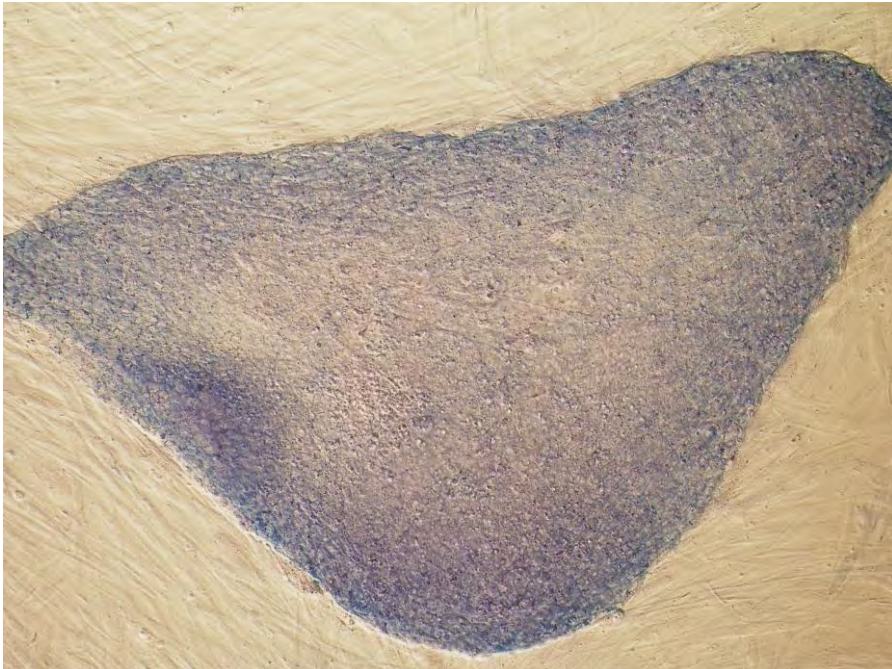
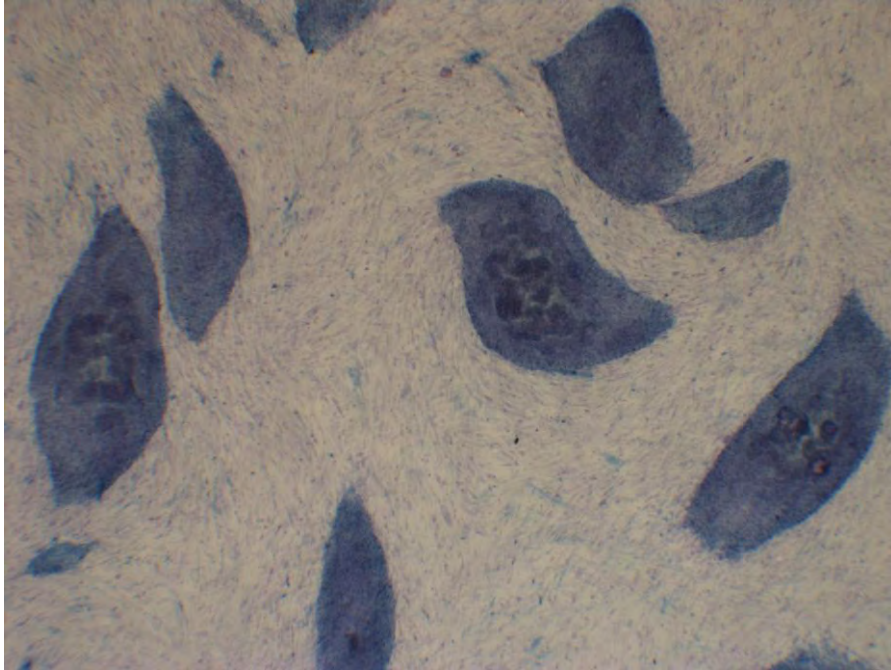
MOSTRA : MOSTRA

RESULTAT No s'observa creixement

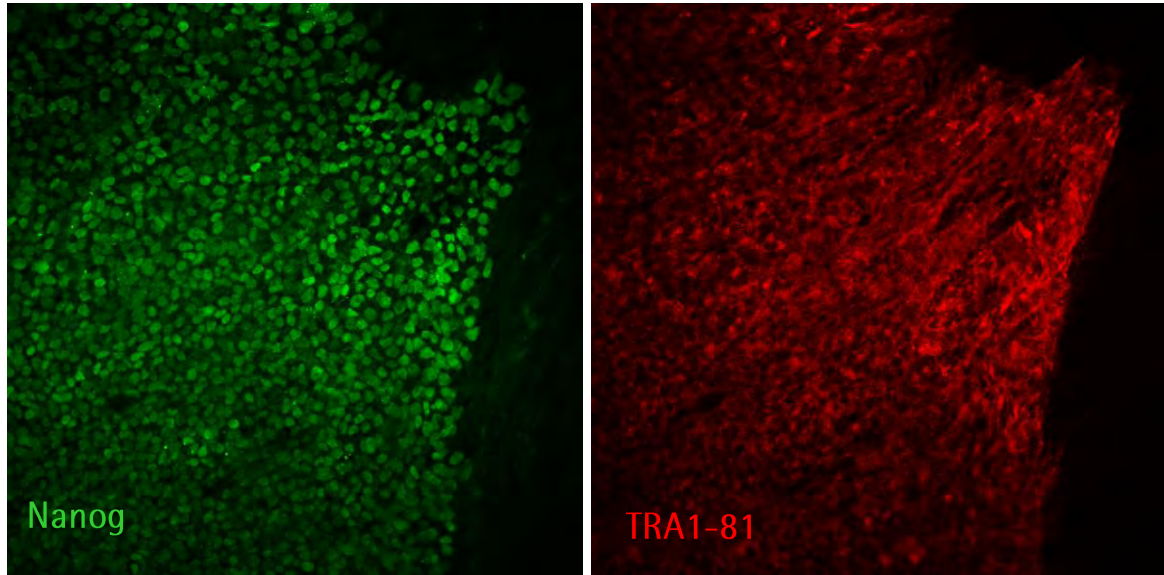
Responsables de Validació : AUTO, NMB.
Director : Dr. J.I. HORNOS I VILA
Barcelona, 28 de novembre de 2012

Anexo 2

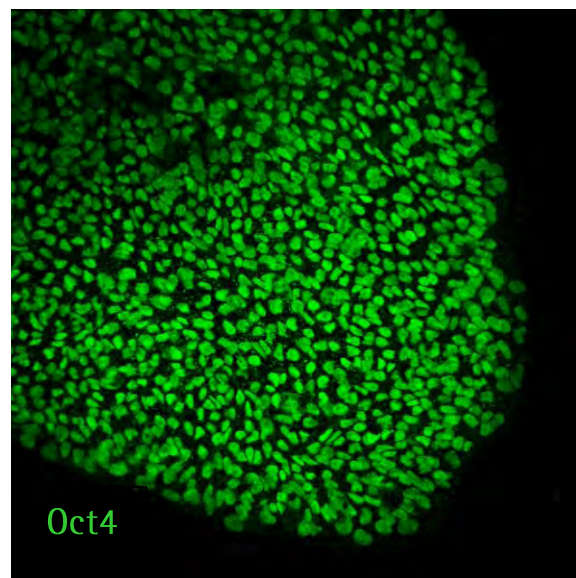
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia [GD]FiPS-4F-21c



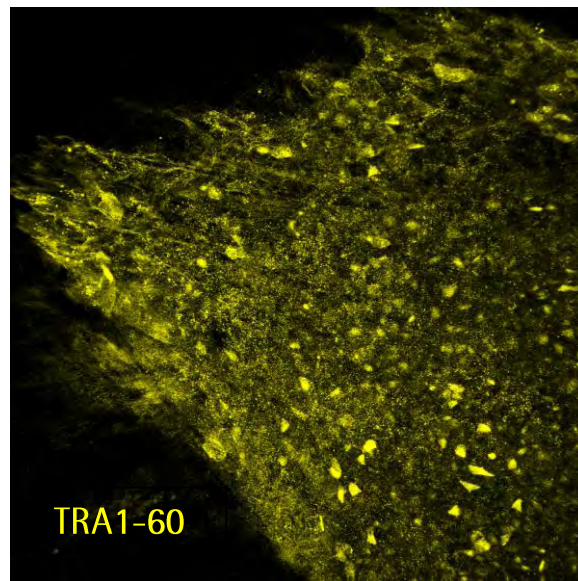
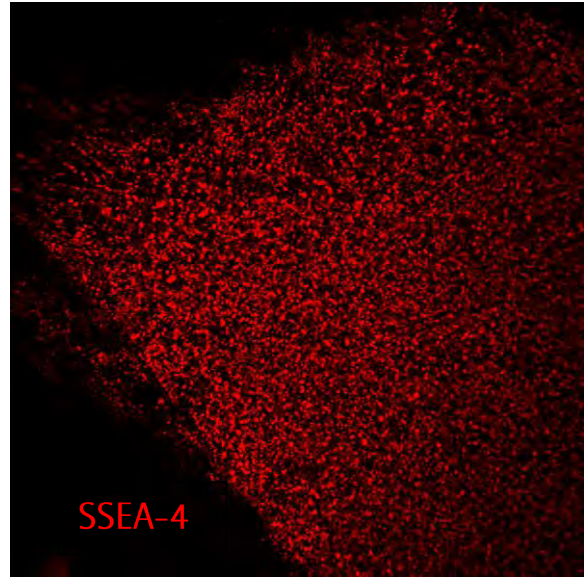
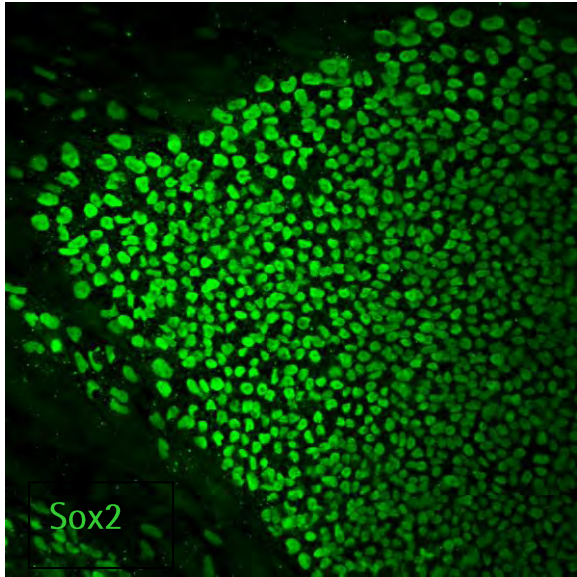
Actividad fosfatasa alcalina de la línea de células pluripotentes [GD]FiPS-4F-21c



Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [GD]FiPS-4F-21c para Nanog y TRA1-81

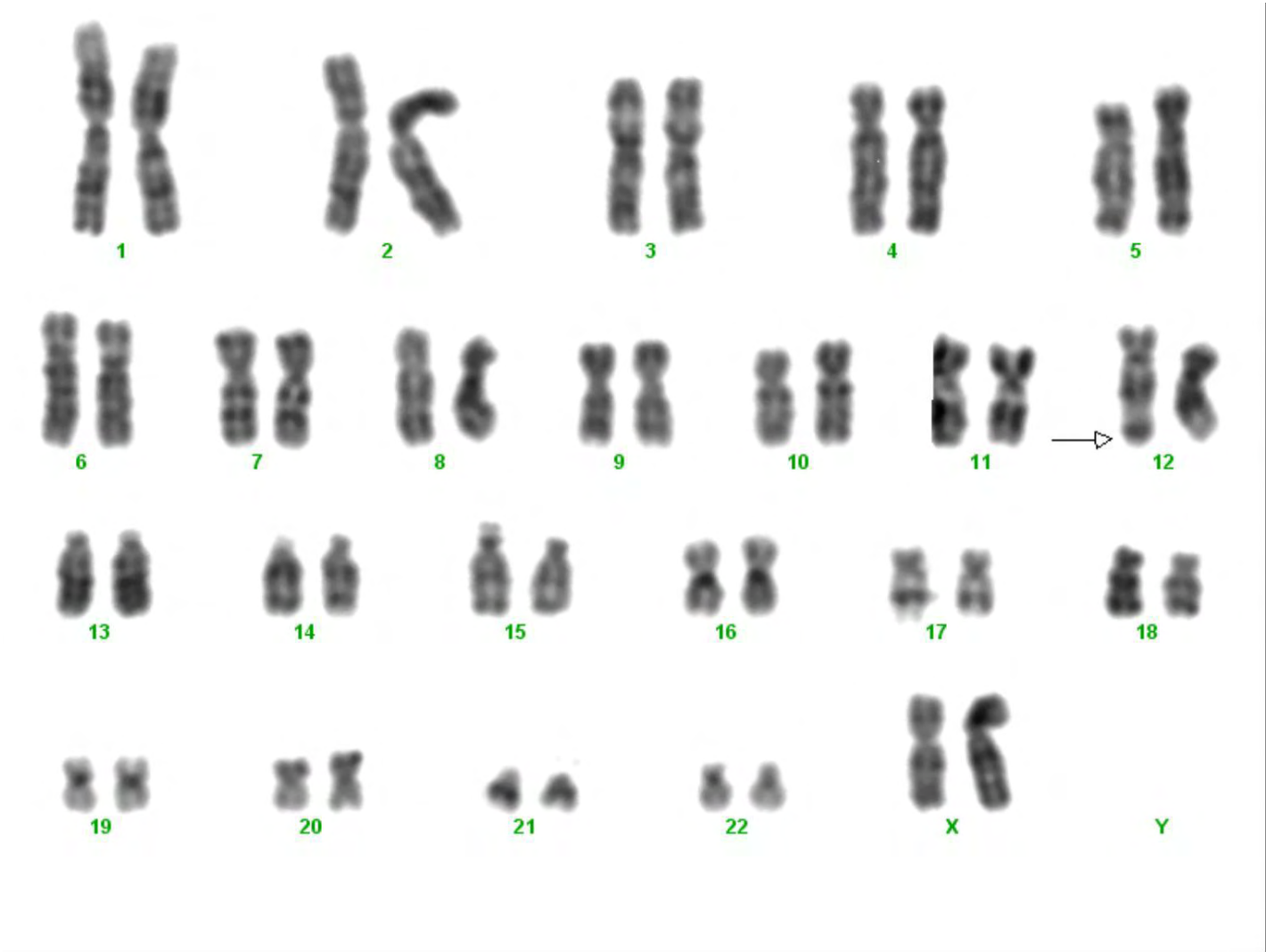


Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [GD]FiPS-4F-21c para Oct-4



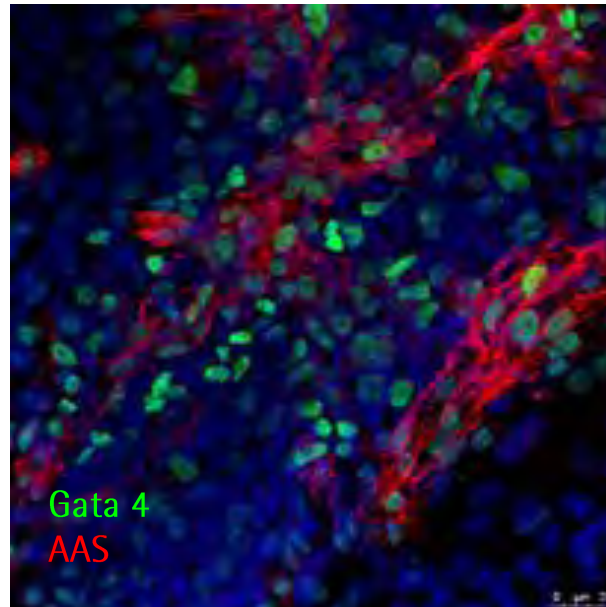
Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [GD]FiPS-4F-21c para Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 3
Cariotipo [GD]FiPS-4F-21c

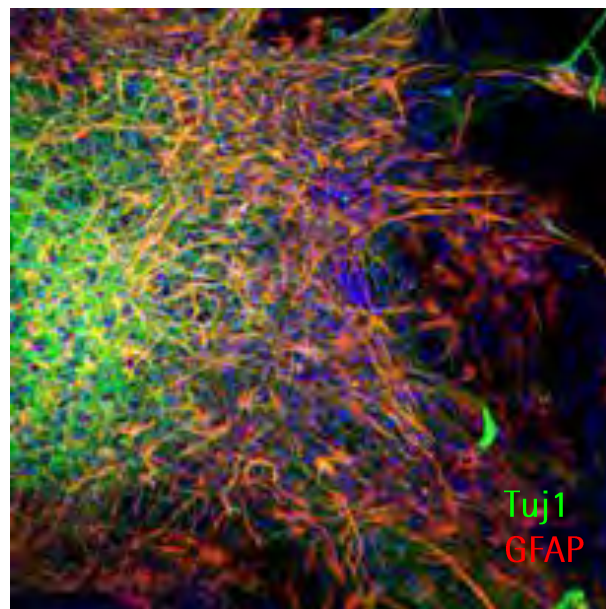


Anexo 4

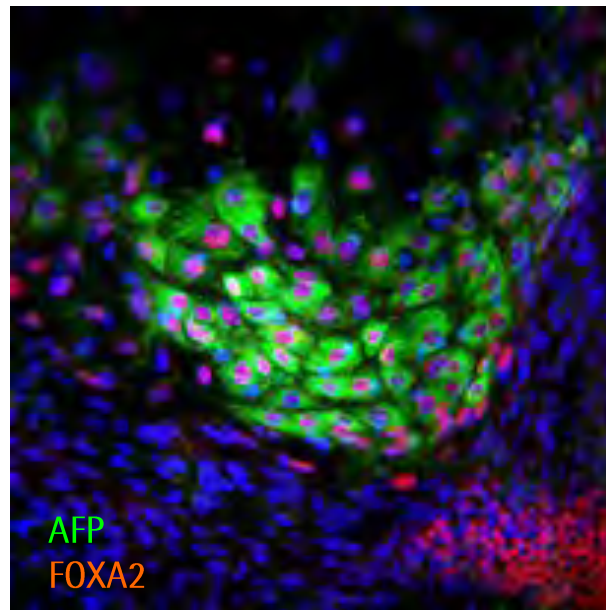
Diferenciación *in vitro* [GD]FiPS-4F-21c



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para Gata4 y AAS



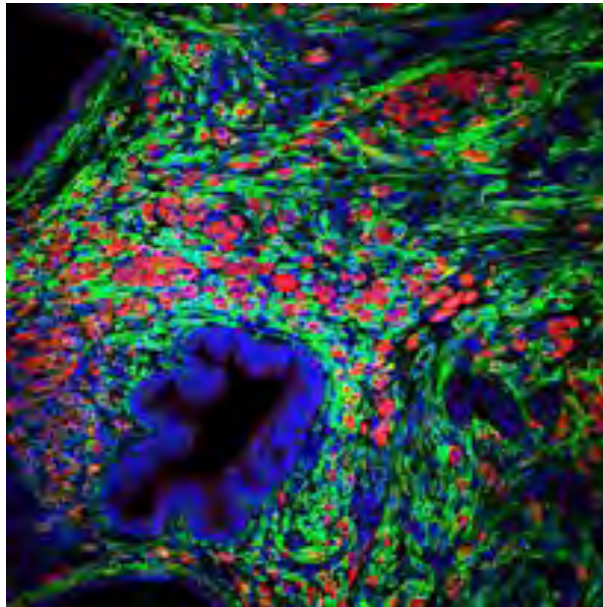
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para Tuj1 y GFAP



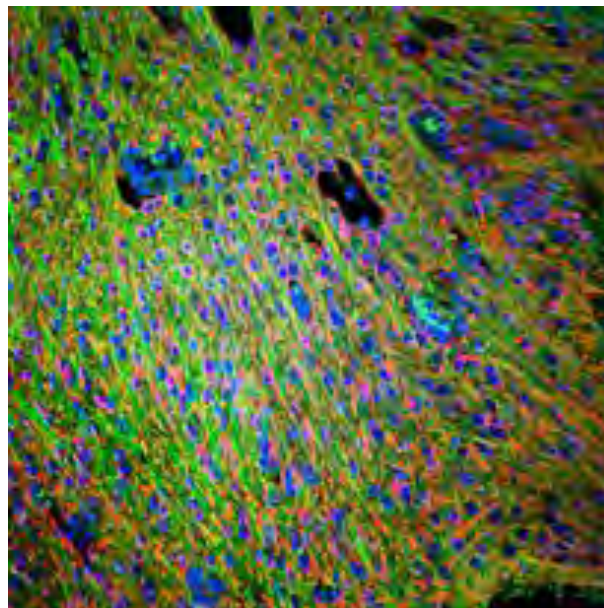
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para AFP y FOXA2

Anexo 5

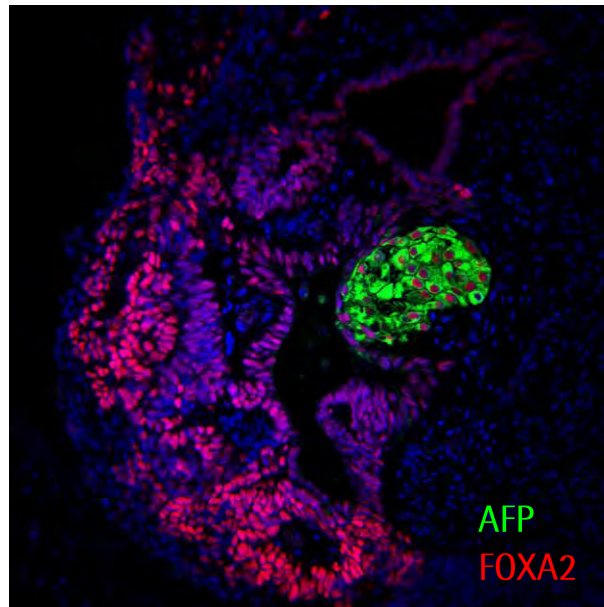
Diferenciación *in vivo* [GD]FiPS-4F-21c



Diferenciación *in vivo* a mesodermo: Células positivas para ASA y ASMA.



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para TUJ1 y GFAP.



Diferenciación *in vivo* a endodermo: Células positivas para α -fetoproteína y FOXA2

Anexo 6

Genotipación [GD]FiPS-4F-21c

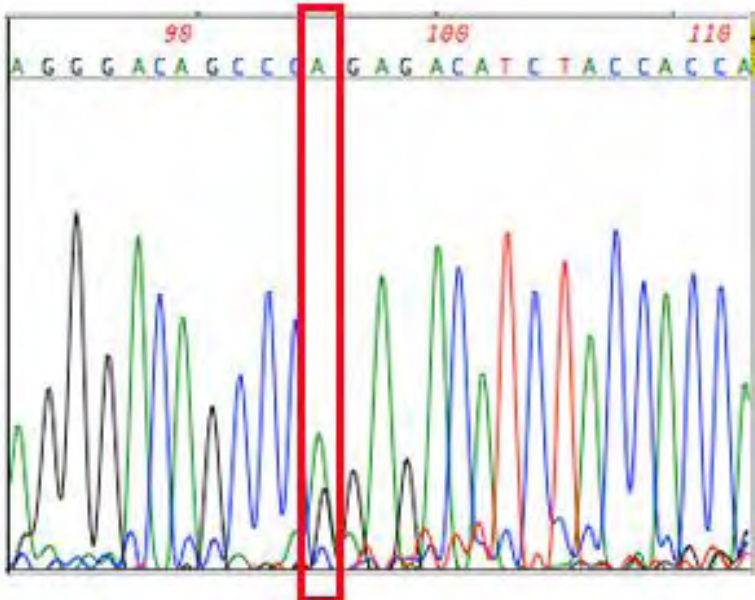
GENOTYPING GD-FiPS-4F-21c

SEQUENCING RESULT:

Sequence of PCR product on exon 7 of human GBA1

Forward primer

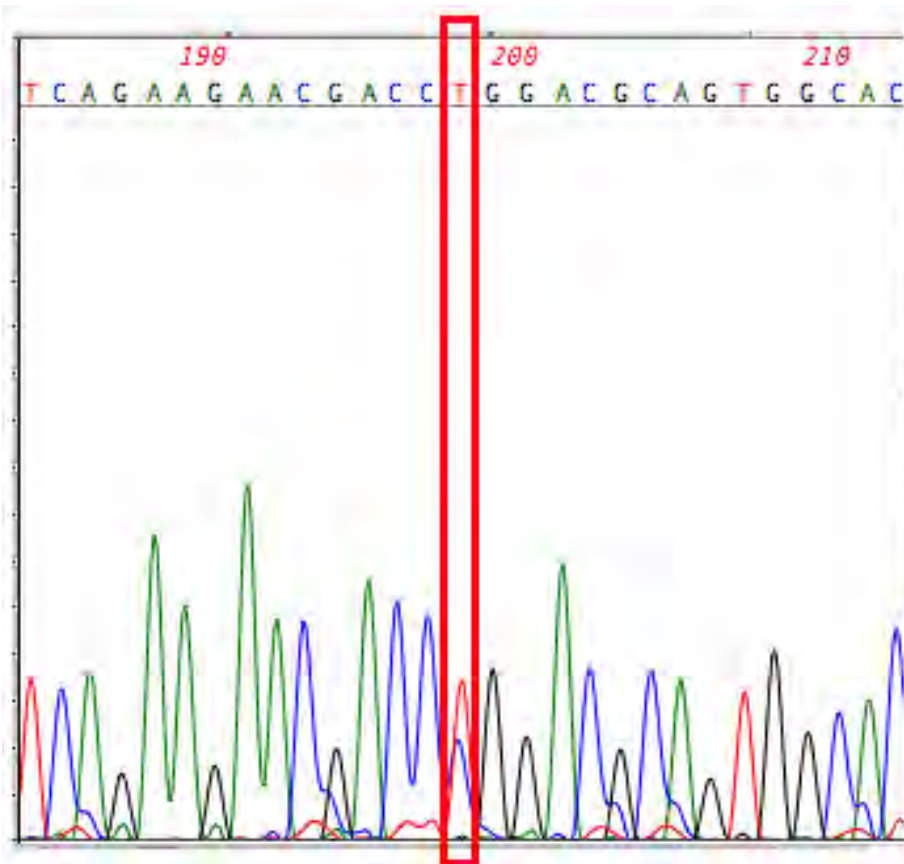
ATTCACCGAGCCCTGCAGTTGGCCCAGCGTCCCGTTTCACTCCTTGCCAGCCCCTGGACA
TCACCCACTTGGCTCAAGACCAATGGAGCGGTGAATGGGAAGGGGTCACTCAAGGGACA
GCCC**(G/A)**GAGACATCTACCACCAGACCTGGGCCAGATACTTTGTGAA



Sequence of PCR product on exon 11 of human GBA1

Forward primer

CGATGCAGAAAAGCAGGGTAGTGCCAGCAGCATGGCTCCAGGCCTAGAGAGCCAGGG
CAGAGCCTCTGCAGGAGTTATGGGGTGGGTCCGTGGGTGGGTGACTTCTTAGATGAGGG
TTTCATGGGAGGTACCCCGAGGGACTCTGACCATCTGTTCCACATTCAGCAAGTTCATTC
CTGAGGGCTCCCAGAGAGTGGGGCTGGTTGCCAGTCAGAAGAACGACC(**T/C**)GGACGCA
GTGGCACTGATGCATCCCGATGGCTCTGCTGTTGTGGTTCGTGCTAAACCGGTGAGGGCAA
TGGTGAGGTCTGGGAAGTGGGCTGAAGACAGCGTTGGGGGCCTTGGCAGGATCACACTC
TCAGCT



Result:

Point mutations **are heterozygotically** observed on GD-FiPS 21c (red Square).

Primers used for sequencing are marked in yellow.