

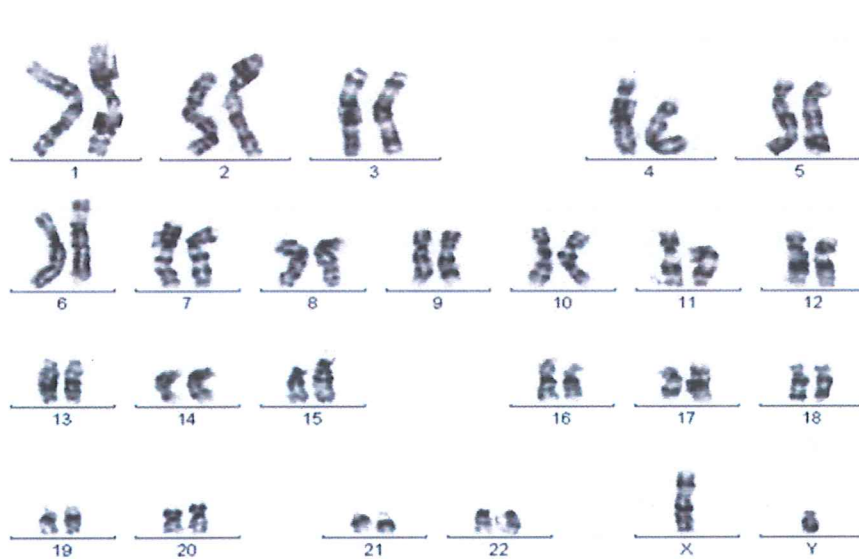
ANEXO 1

Cariotipo/bandeo G

Caryotype/ G-banding

Trabajo realizado por el Biobanco de SSPA, centro de Granada, a partir de una muestra de células iPS EYS02-MiPS4F7 adaptadas a cultivo sin feeders.

Results provided by SSPA Biobanc of Granada, from a sample of EYS cell line adapted to grow without feeders.



Diagnóstico citogenético: Línea celular compatible con un cariotipo masculino normal 46, XY.

Cytogenetic diagnostic:

Cell line compatible with a normal male karyotype 46, XY.

Anexo 2

Genotipado por secuenciación Sanger

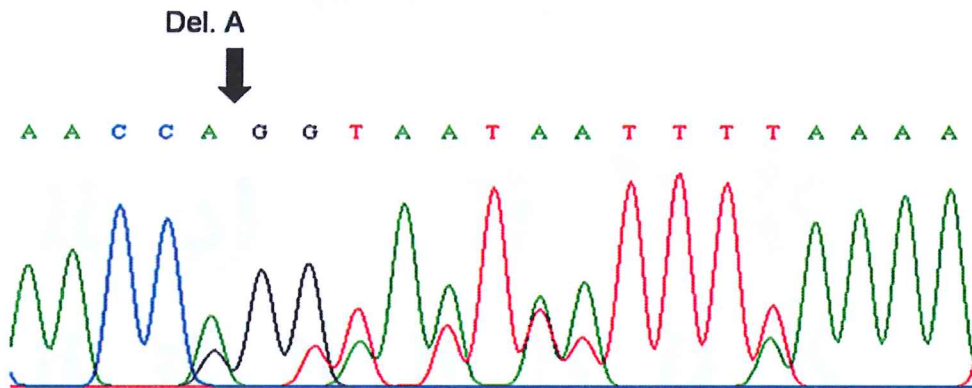
Genotipado de las mutaciones presentes en ambos alelos del gen EYS en la línea celular EYS02-MiPS4F7:

EXON 23: c.3567delA p.Gly1190Aspfs*3

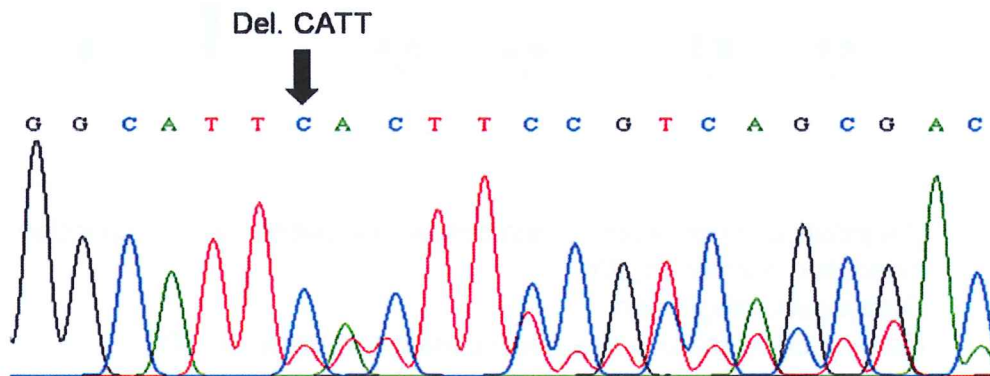
EXON 26: c.4829-4832delCATT p.Ser1610Phefs*7

Genotyping by Sanger sequencing of the mutation sites in both alleles of the EYS gene in the EYS02-MiPS4F7 iPS cell line.

Exon 23



Exon 26



ANEXO 3 Huella genética por análisis de STR

Trabajo realizado en el Biobanco del SSPA, centro de Granada, a partir de muestras de ADN genómico de la línea EYS02-MiPS4F7 y de las células primarias (PBMCs).

Fingerprint analysis

Results provided by the SSPA Biobanc of Granada from genomic DNA sample from both primary cells (PBMCs) and EYS02-MiPS4F7

	PBMCs	EYS02-MiPS4F7
AMEL	X, Y	X, Y
CSF1PO	11	11
D5S818	11, 12	11, 12
D13S317	8, 11	8, 11
D21S11	30.2, 31.2	30.2, 31.2
D16S539	12	12
D7S820	8, 11	8, 11
TH01	6, 7	6, 7
TPOX	8, 11	8, 11
vWA	13, 15	13, 15

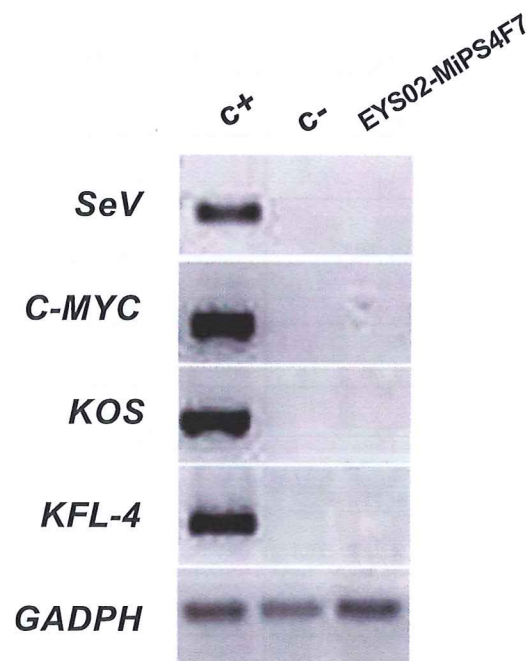
ANEXO 4

Análisis silenciamiento

Se realiza rtPCR para detectar factores de reprogramación ectópicos y gen que codifica la cápsida del virus. c+ es EYS02-MiPS4F7 en pase 1, c- es una muestra de las células primarias (PBMCs).

Viral silencing analysis

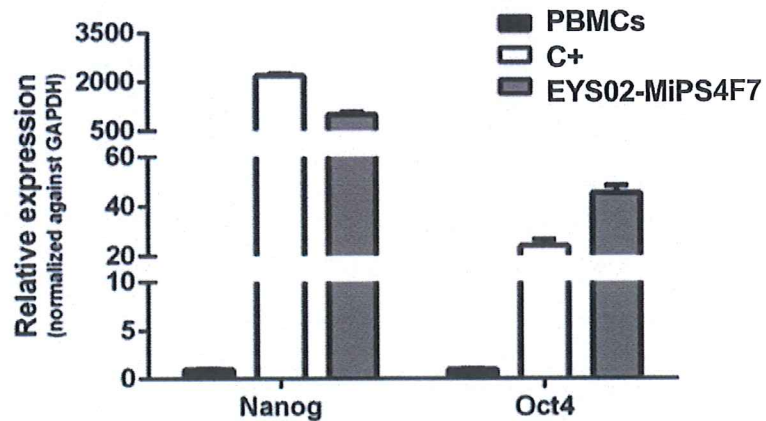
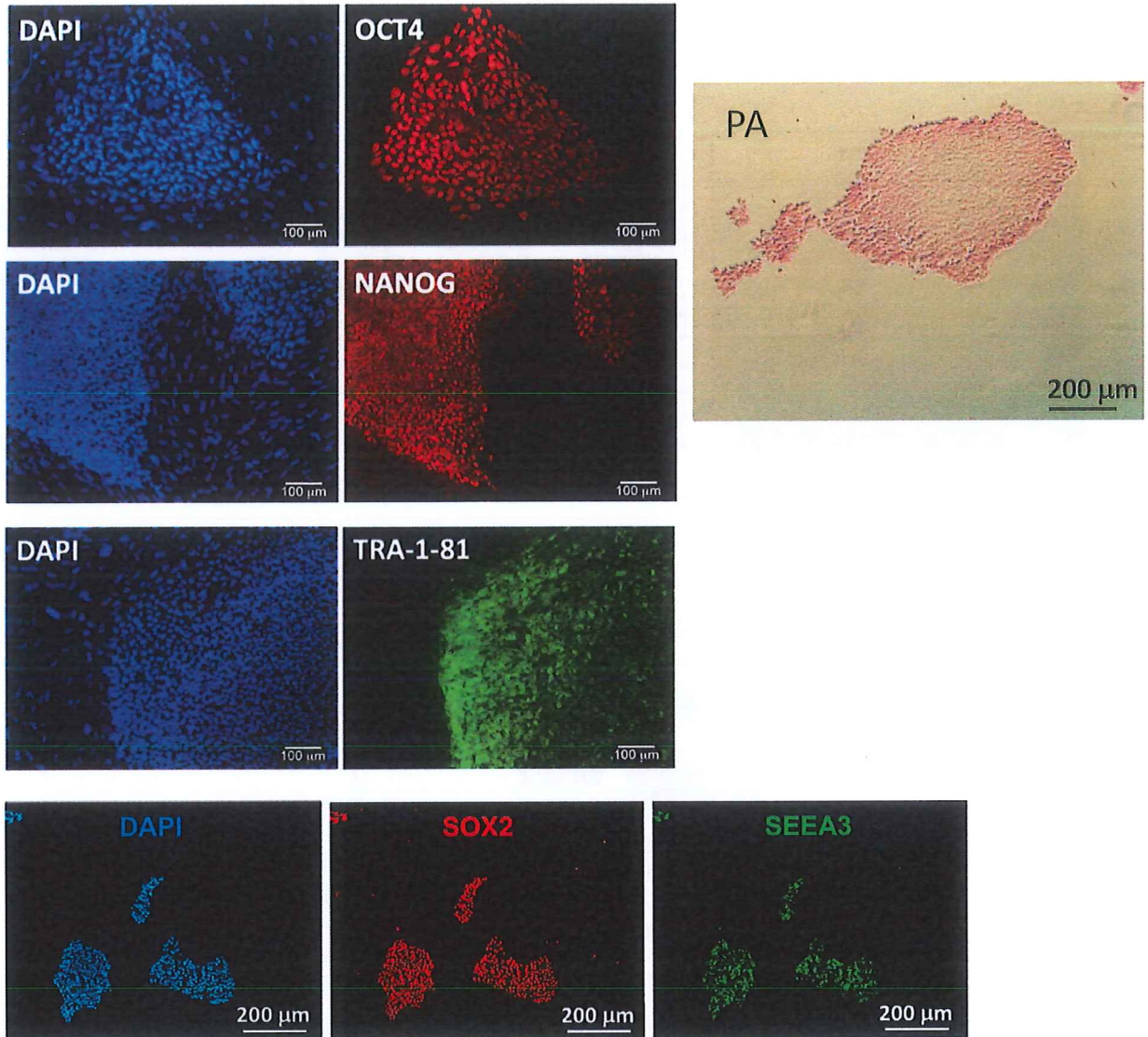
rtPCR to detect ectopic reprogramming factors and capsid gene. c+ is EYS02-MiPS4F7 at passage 1 and c- is a primary cell sample (PBMCs).



ANEXO 5

Caracterización de pluripotencia por inmunofluorescencia, qPCR y actividad fosfatasa alcalina de la línea EYS02-MiPS4F7

Pluripotency characterization using IF, qPCR and AP test for EYS02-MiPS4F7 iPSC line.

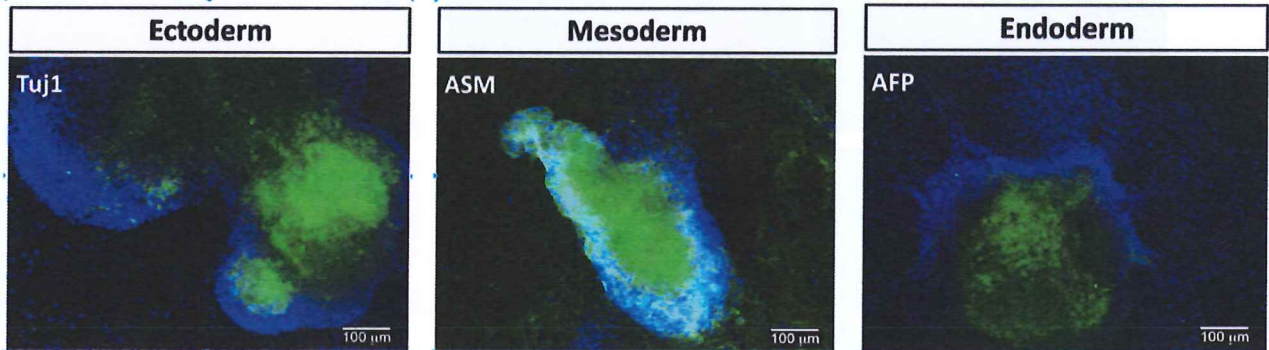


ANEXO 6

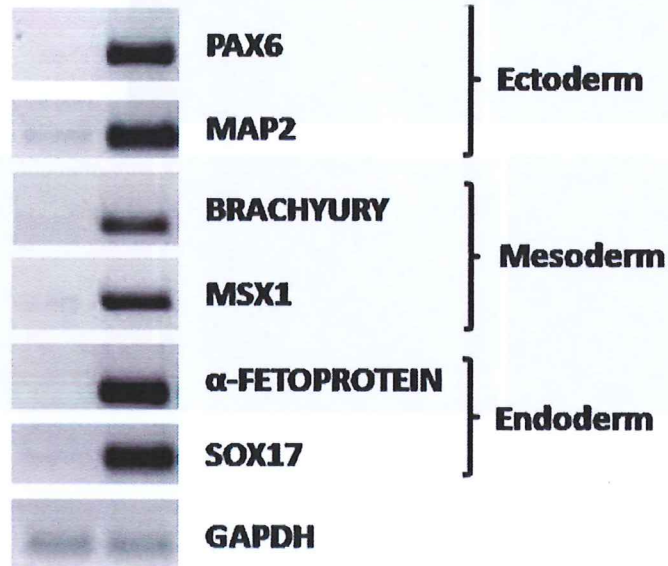
Diferenciación *in vitro*: IF y rtPCR de marcadores de las tres capas embrionarias en cuerpos embrionarios diferenciados a partir de EYS02-MiPS4F7.

Para la IF: AFP, alpha fetoprotein; Tuj 1, neuron-specific b-tubulin; SMA, smooth muscle actin.

In vitro differentiation: IF and rtPCR of markers of three germ layers in embryoid bodies generated from EYS02-MiPS4F7.



C- EBs



ANEXO 7

***Mycoplasma* test**

Test de luminiscencia MycoAlert Plus: Se considera ausencia de *Mycoplasma* cuando el valor de la lectura de luminiscencia B/A es menor que 1.

Luminiscence test MycoAlert Plus : Manufacturer considers a negative value for Mycoclasma contamination when Read B/Read A is less than 1.

	Luminiscencia ratio B/A
Control negativo	0,085
Control positivo	26,472
EYS02-MiPS4F7	0,420

