



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **Hz 30-18-3 CBiPS2-Sv4F-D10**
EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

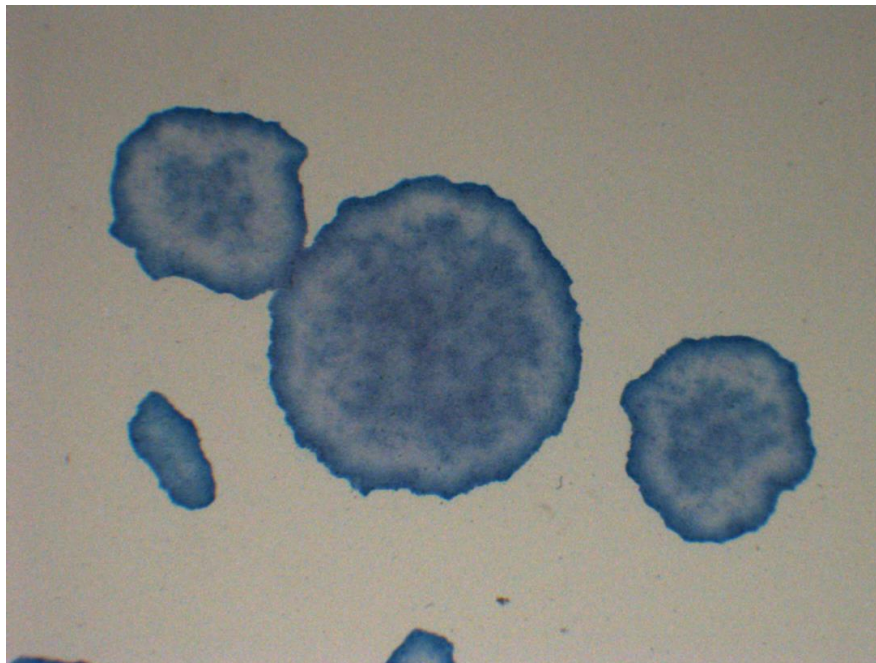
Anexo 4: Resultados microsatélites

Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

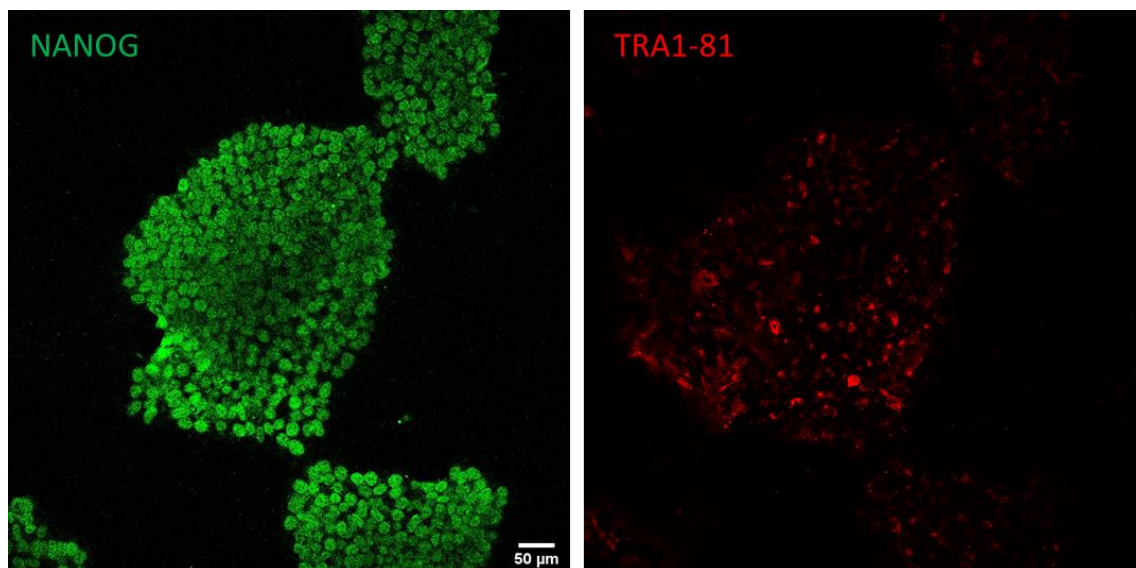
Anexo 6: Resultado test de micoplasma

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

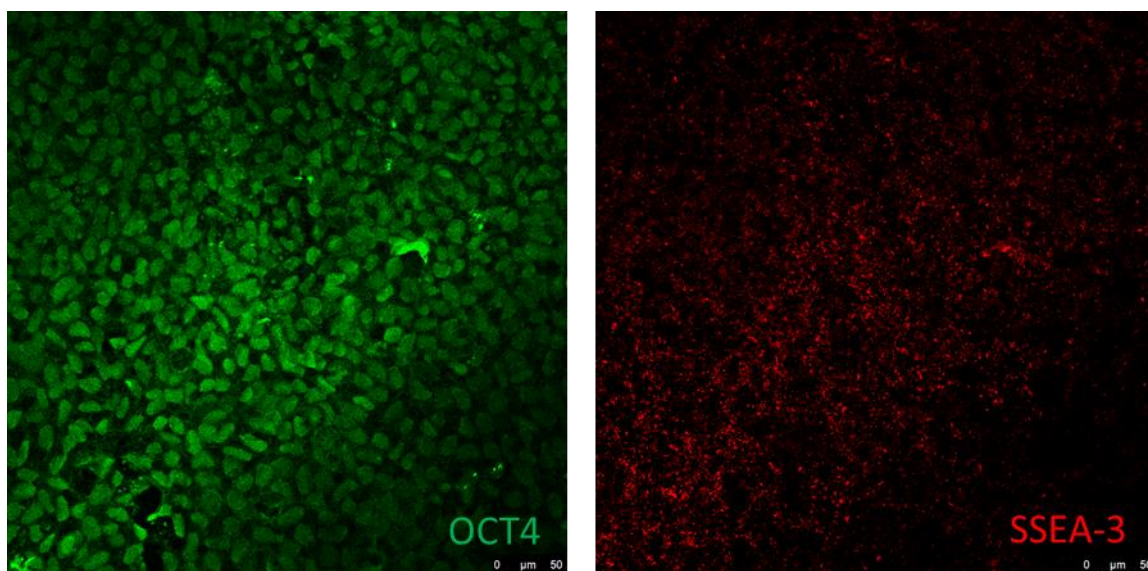


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



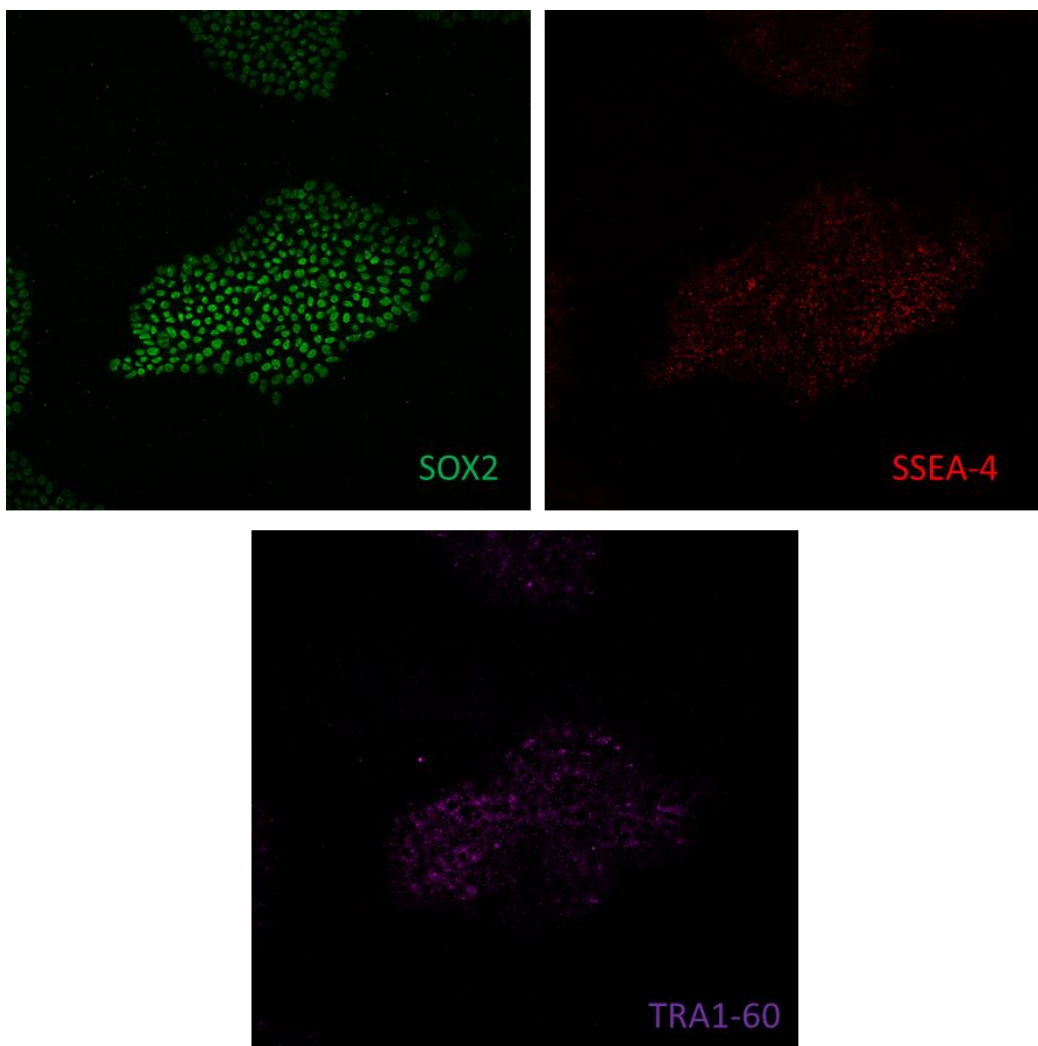
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



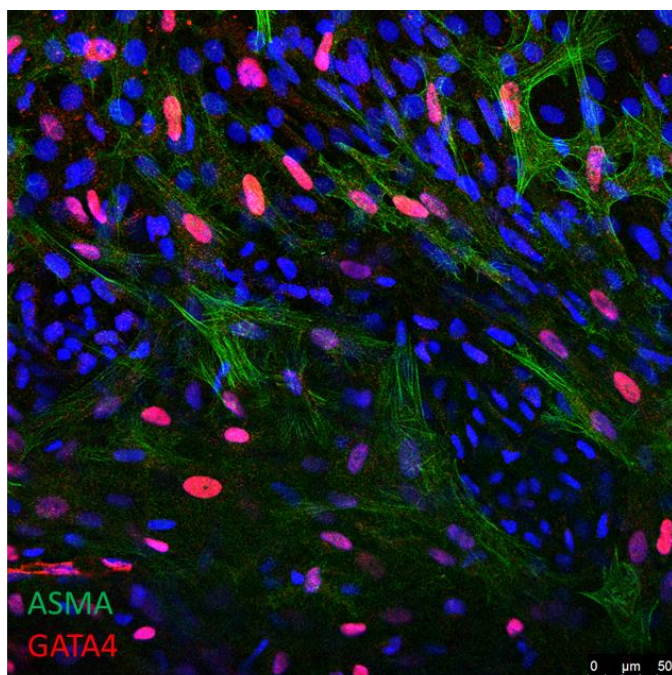
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

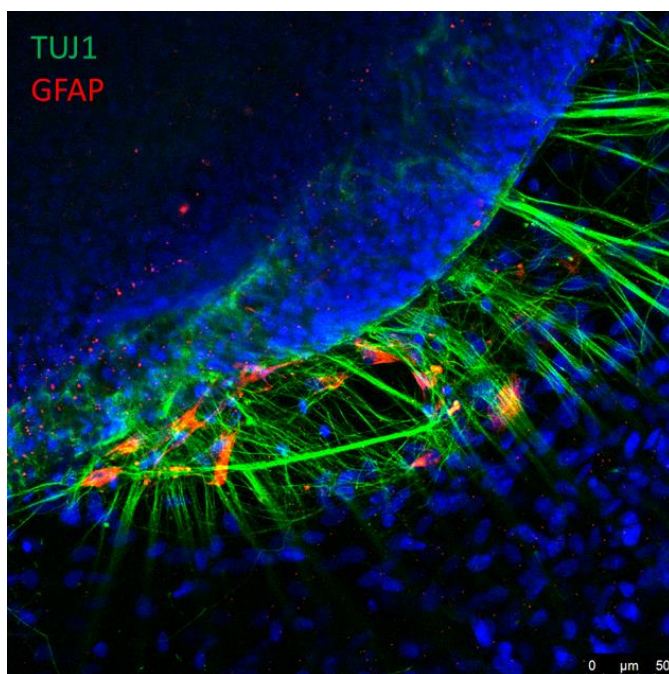


Anexo 2

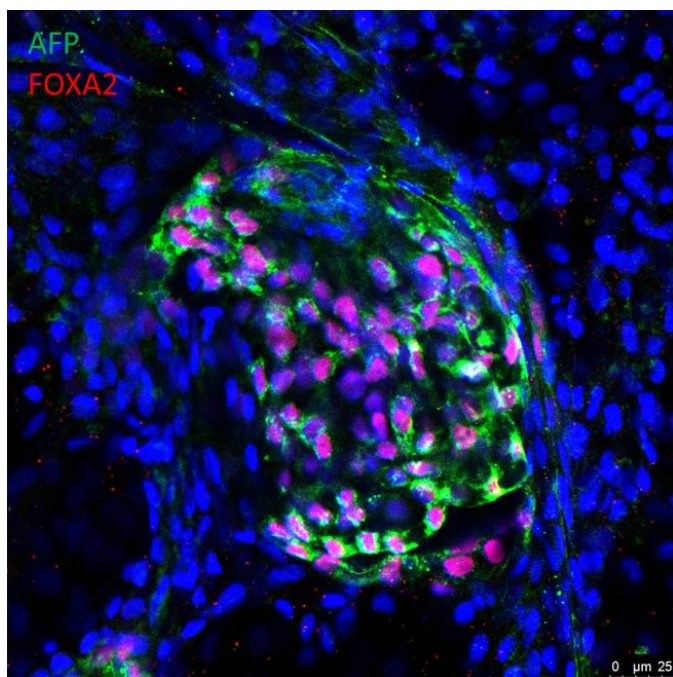
Diferenciación *in vitro*



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y GATA4**



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



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



Anexo 3

Cariotipo

ESTUDIO CITOGENETICO

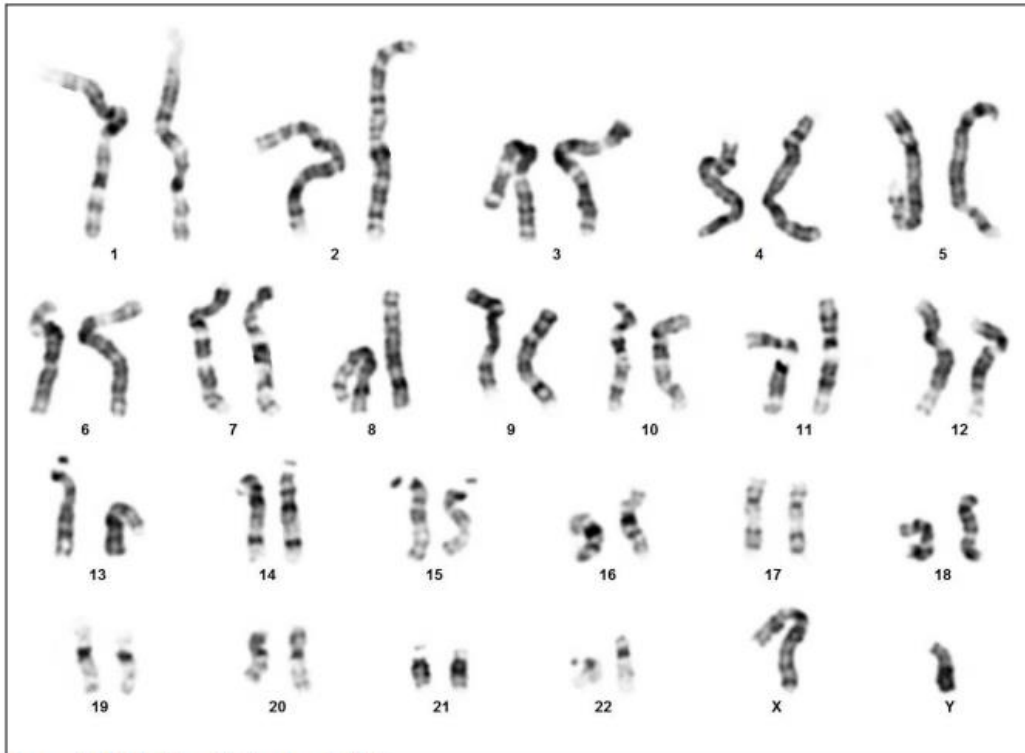
Case name: 10621025

Servicio: IDIBELL

NHC: CT0217

Tipo de muestra: CM

Nombre y Apellidos: CD34 iPS2-Sv4F-D10 p17



Case: 10621025 Slide: 1 Cell: 2

Resultado: 46,XY

El nombre CD34 iPS2-Sv4F-D10 corresponde a la nomenclatura original de la línea Hz 30-18-3 CBiPS2-Sv4F-D10



Anexo 4

Resultado microsatélites

P-CMR[C]

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
Hz 30-18-3 CBiPS2-Sv4F-D10	5; 9.3	28; 32.2	11	12; 13	11; 12	11	11; 12	X; Y	18	9

P-CMR[C]

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
CD34 30-18-3, 19.10.20	5; 9.3	28; 32.2	11	12; 13	11; 12	11	11; 12	X; Y	18	9

Barcelona, a 16 de diciembre de 2020

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en las células CD34+ de las que procede.

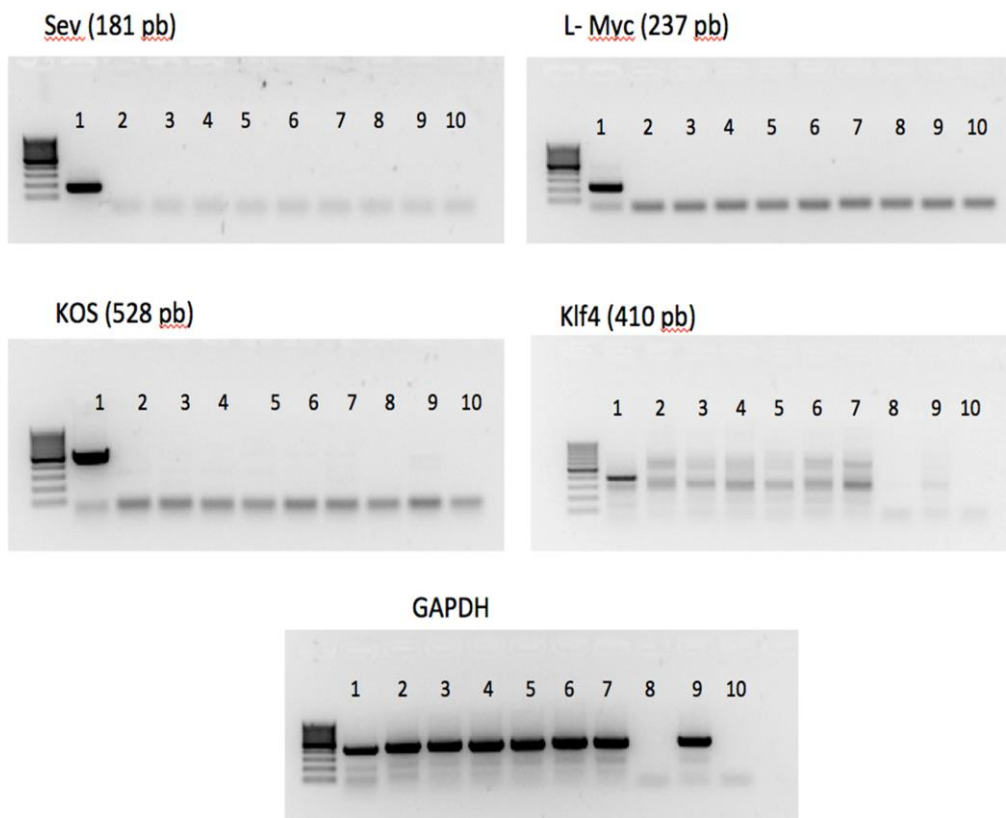


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.1 15/01/2021

1. Control + SENDAI 2.1
2. Hz 30-18-3 CBI_{PS2}-Sv4F-D3 p15
3. Hz 30-18-3 CBI_{PS2}-Sv4F-D4 p12
4. Hz 30-18-3 CBI_{PS2}-Sv4F-D5 p15
5. Hz 30-18-3 CBI_{PS2}-Sv4F-D7 p11
6. Hz 30-18-3 CBI_{PS2}-Sv4F-D9 p12
7. Hz 30-18-3 CBI_{PS2}-Sv4F-D10 p12
8. Sample NO RT
9. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE)
10. H₂O



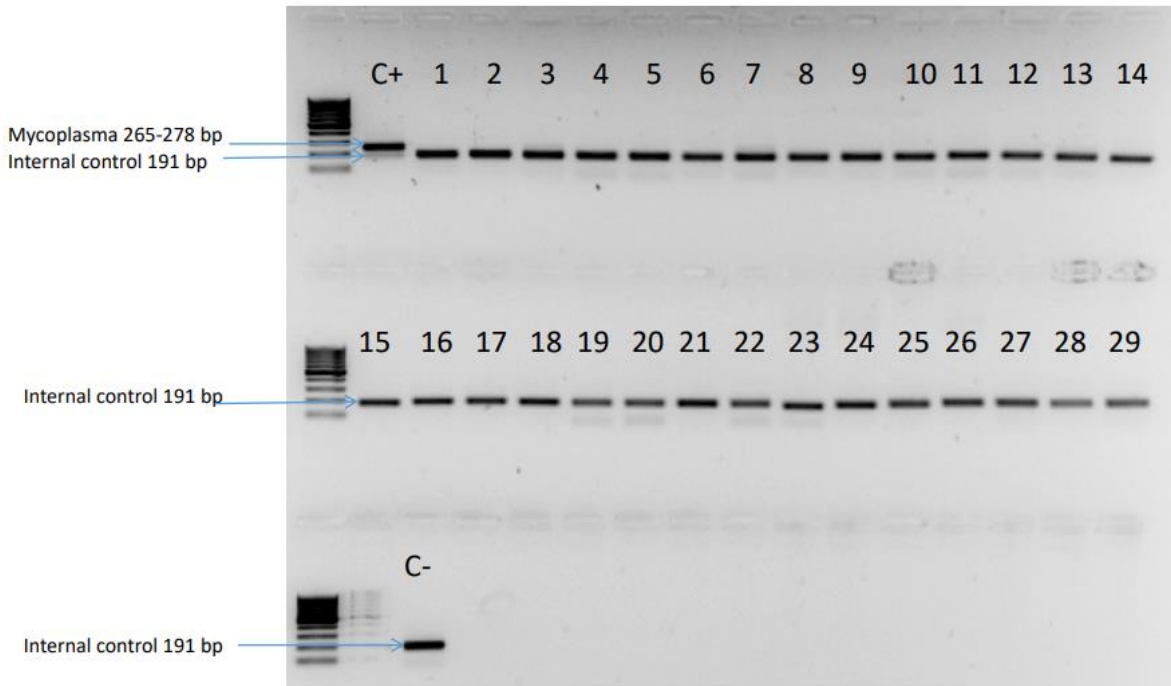
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 10/03/2021



29: Hz 30-18-3 CBiPS2-Sv4F-D10