



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **SPG FiPS1-Ep6F-4** 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

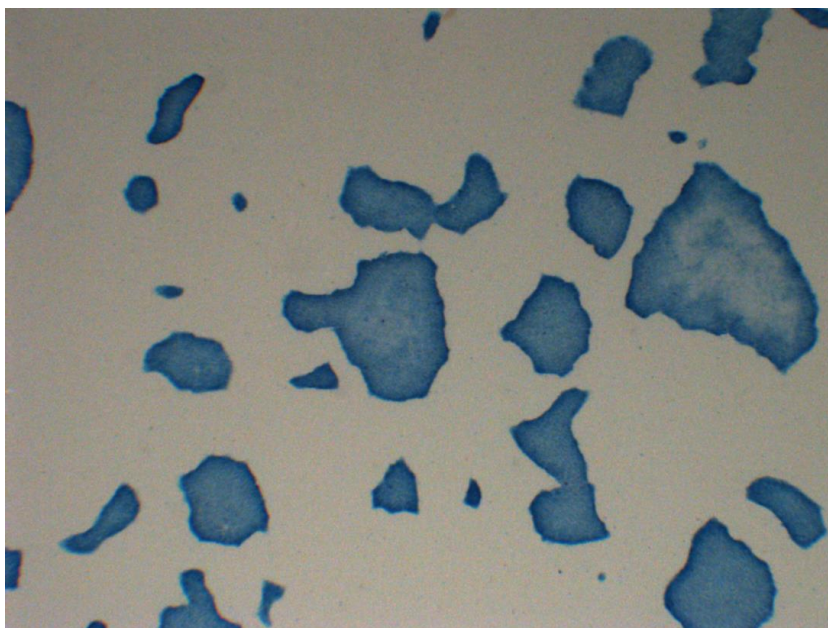
Anexo 6: Comprobación de la presencia de la mutación

Anexo 7: Resultado test de micoplasma

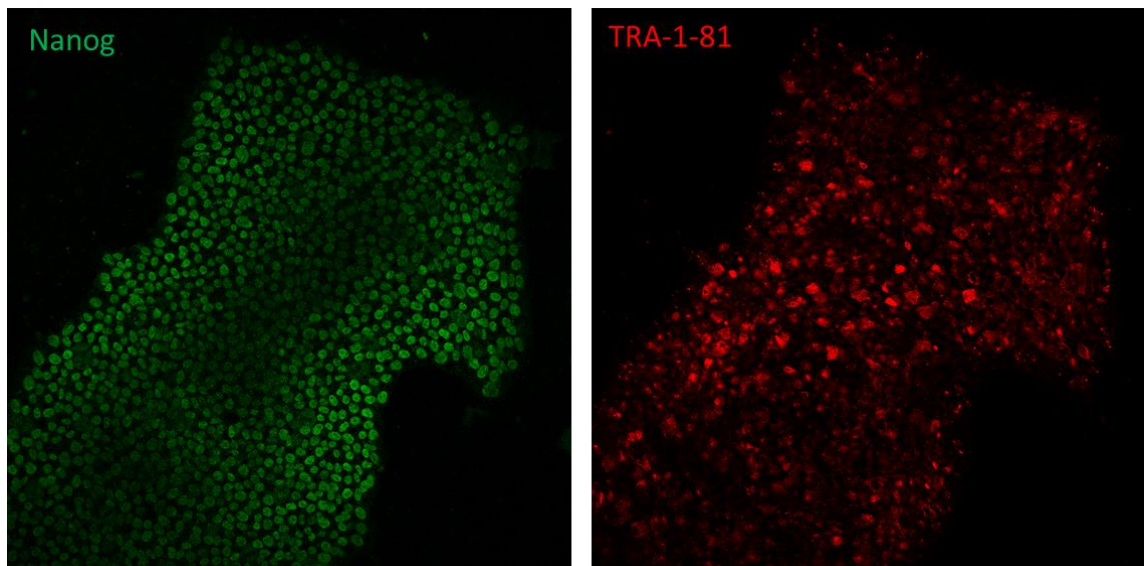


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

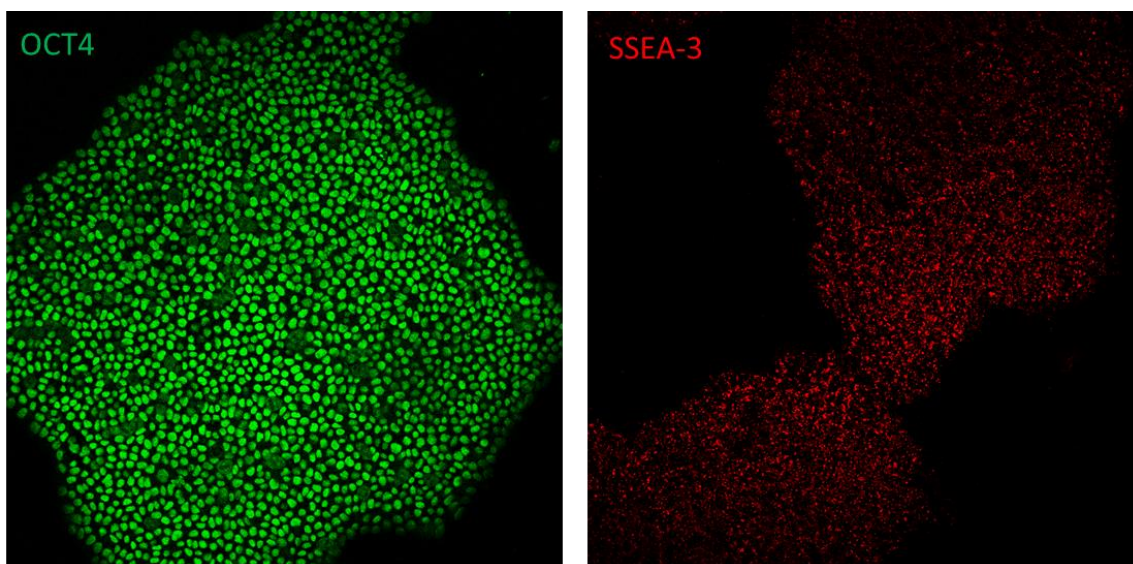


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



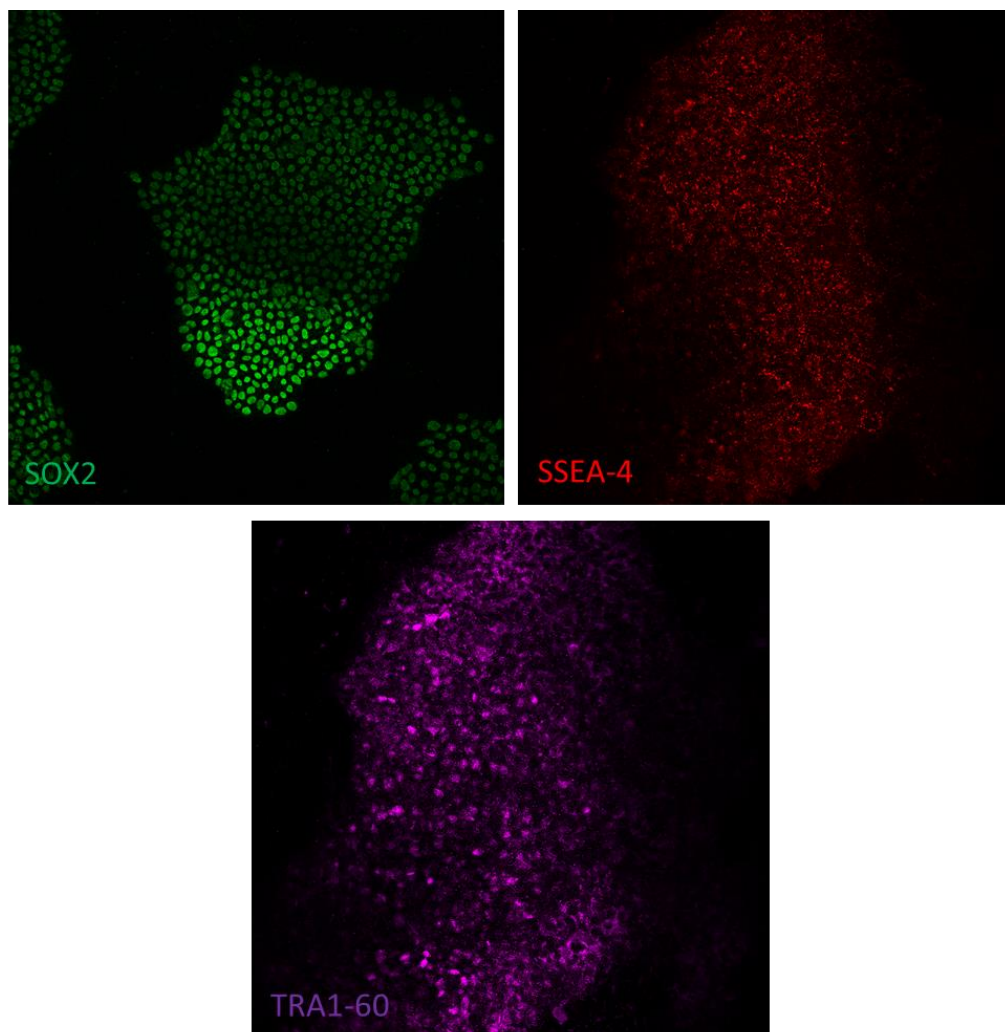
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



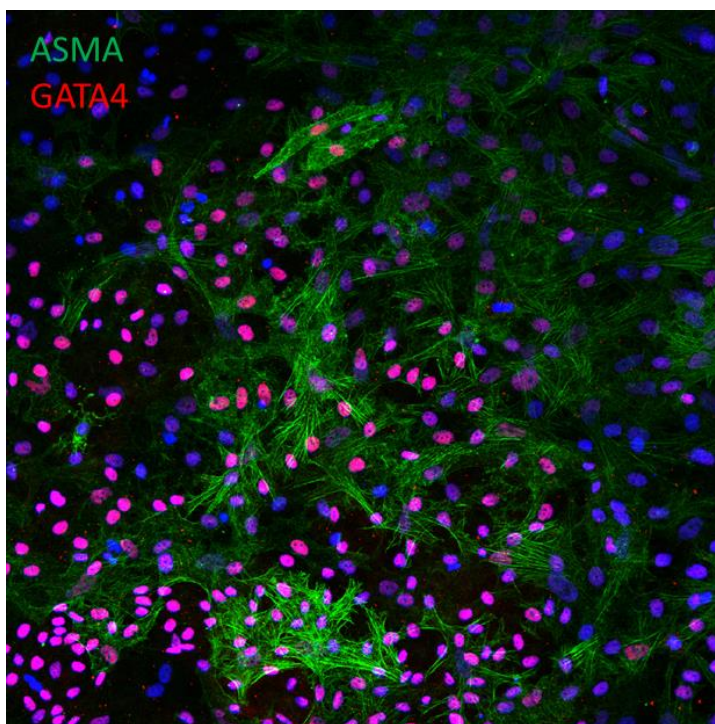
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

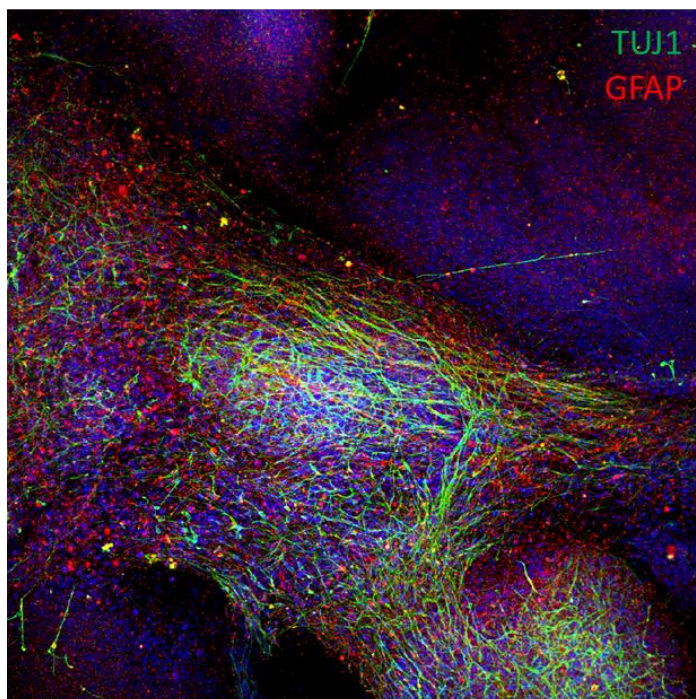


Anexo 2

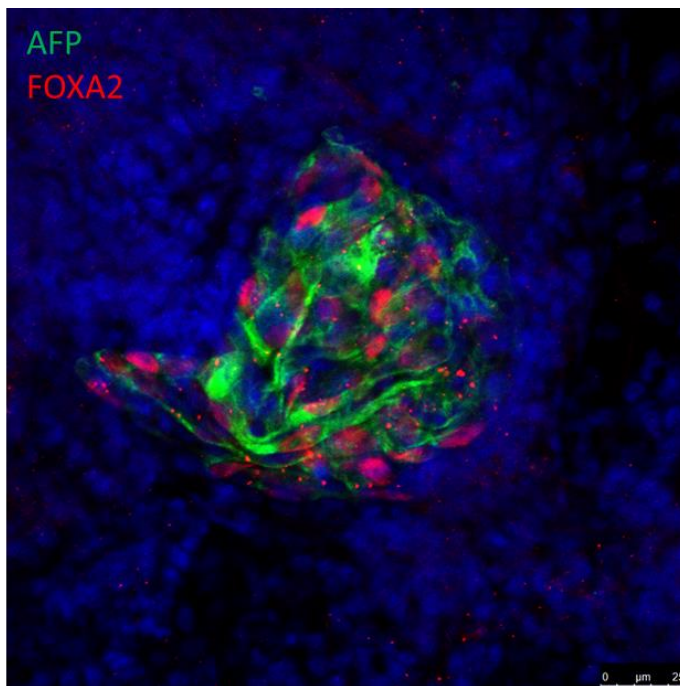
Diferenciación *in vitro*



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: 10621019

Servicio: IDIBELL

NHC: CT0216

Tipo de muestra: CM

Nombre y Apellidos: SPG FiPS1-Ep6F-4 p12



Case: 10621019 Slide: 1 Cell: 6F

Resultado: 46,XX



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
SPG FiPS1- Ep6F-4 p12	6; 9.3	28; 29	11; 12	8; 12	8; 11	11; 14	10	X	15	8

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.

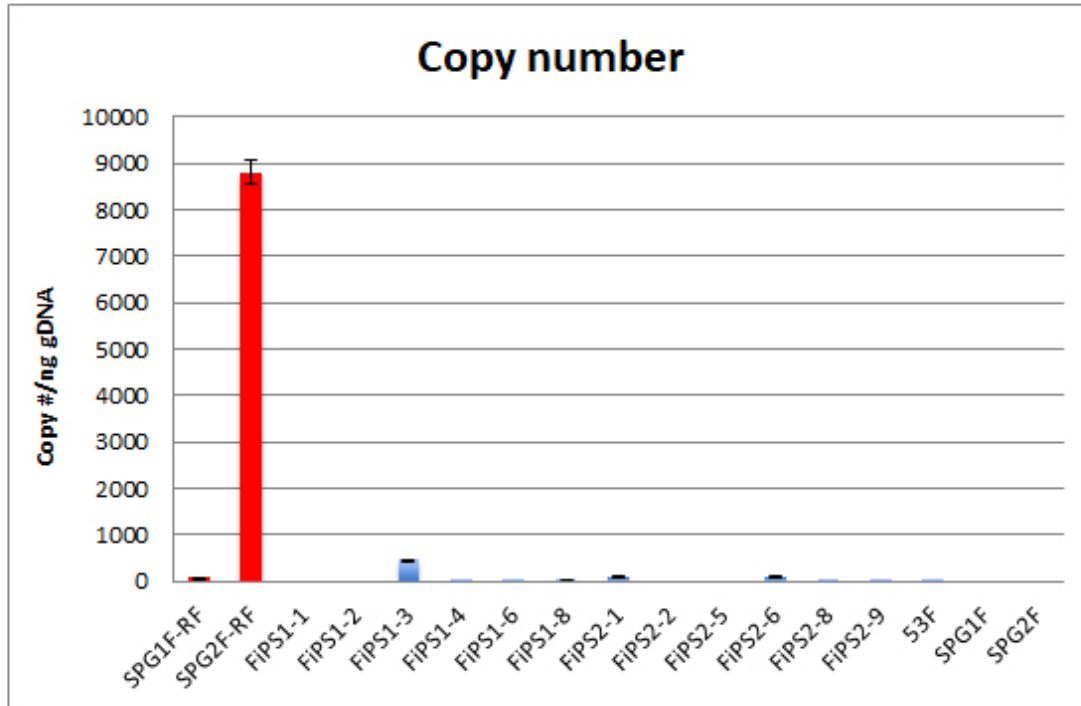
Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
Fb SPG1 fibroblasts, P2, 2,5M cells, 05.10.20	6; 9.3	28; 29	11; 12	8; 12	8; 11	11; 14	10	X	15	8

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.

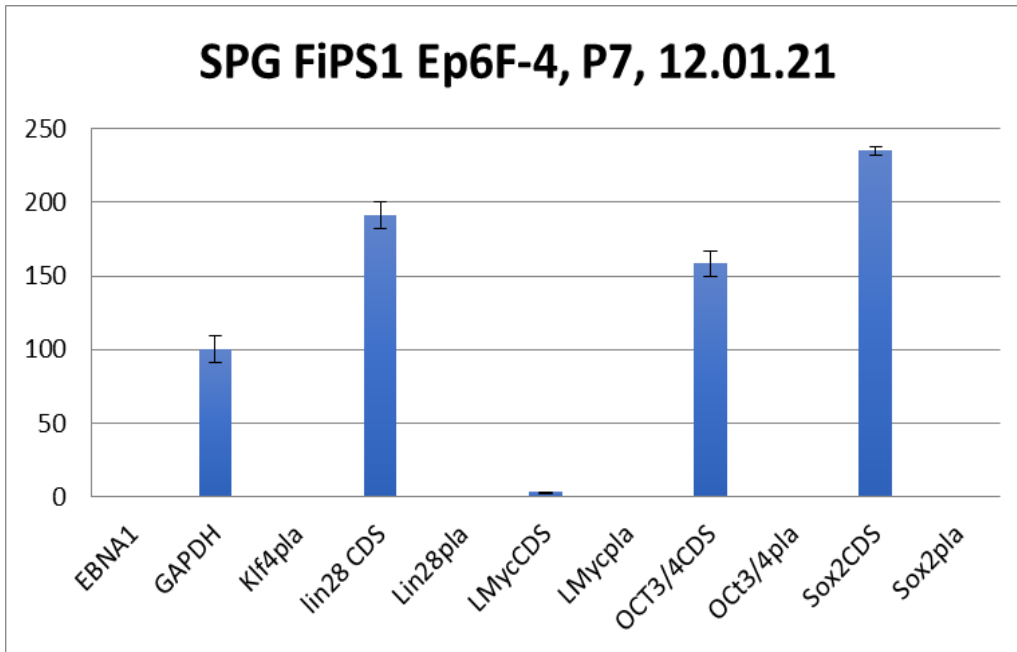


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC (FiPS1-4 corresponde a la abreviación de **SPG FiPS1-Ep6F-4**) y en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG1F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección (**SPG1-RF**)



Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea SPG FiPS1-Ep6F-4.

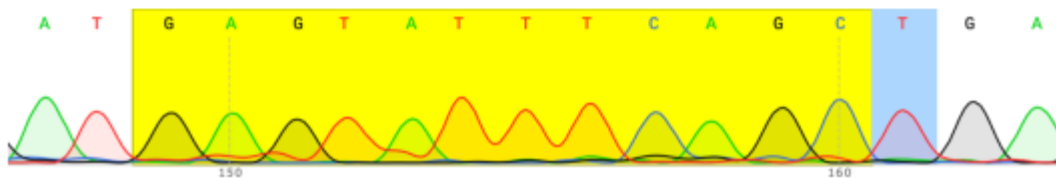
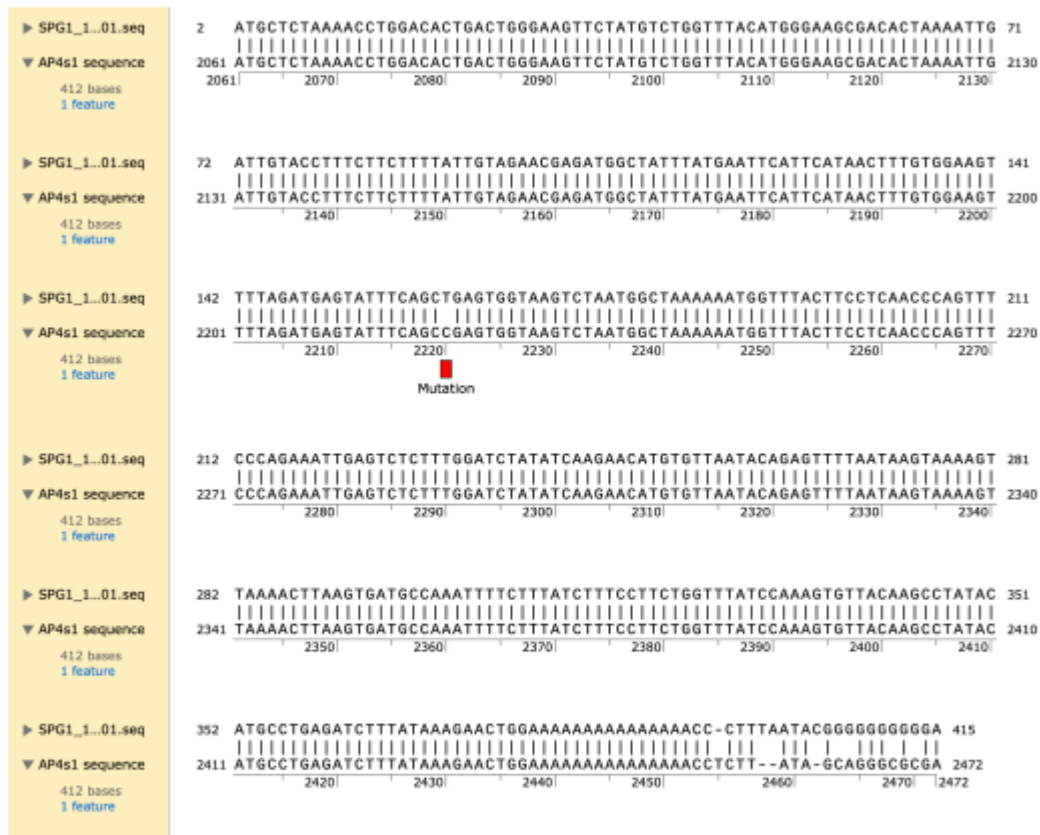


Anexo 6

Comprobación de la presencia de la mutación

SPG1 - Paciente con SPG52, portadora en homocigosis de la mutación

Confirmamos que la línea SPG1 es portadora de la variante c.289C>T en homocigosis. Este resultado se puede observar tanto en la alineación de secuencias, como en el electroferograma.

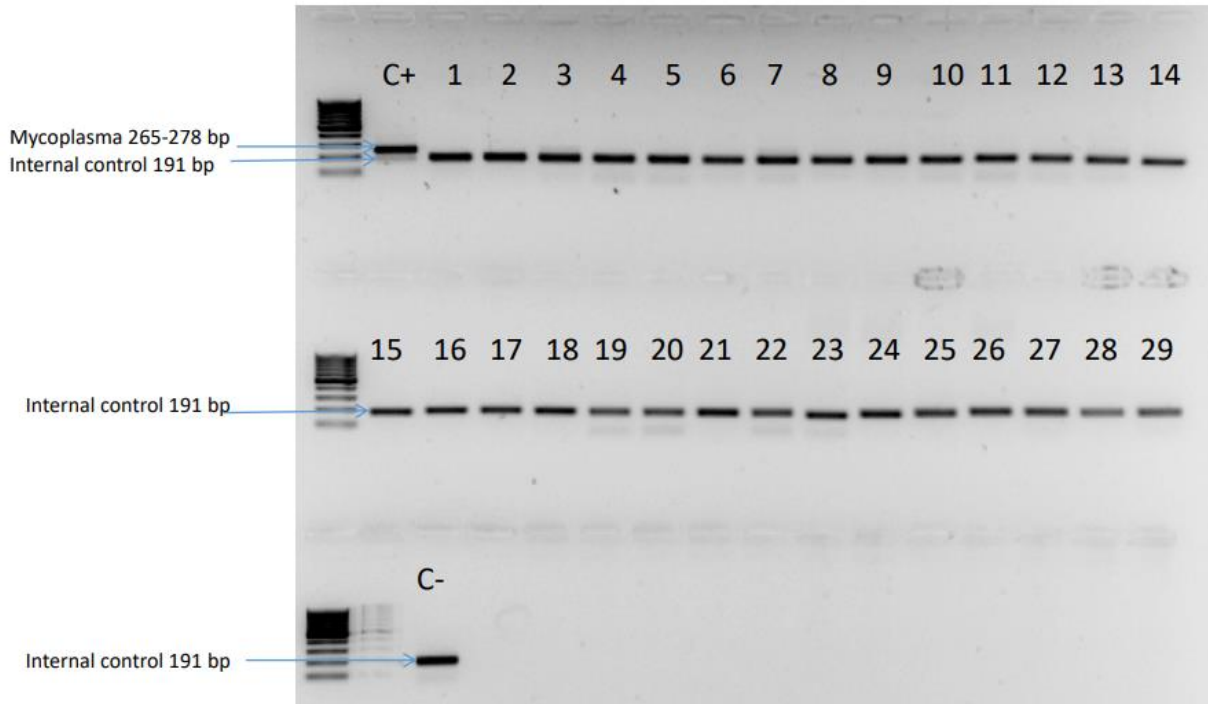




Anexo 7

Resultado test de micoplasma

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



27. -SPG FiPS1-Ep6F-4 p11
28. -SPG FiPS2-Ep6F-8 p11

P-CMR[C]