



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **LD FiPS18338-Ep6F-3** 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

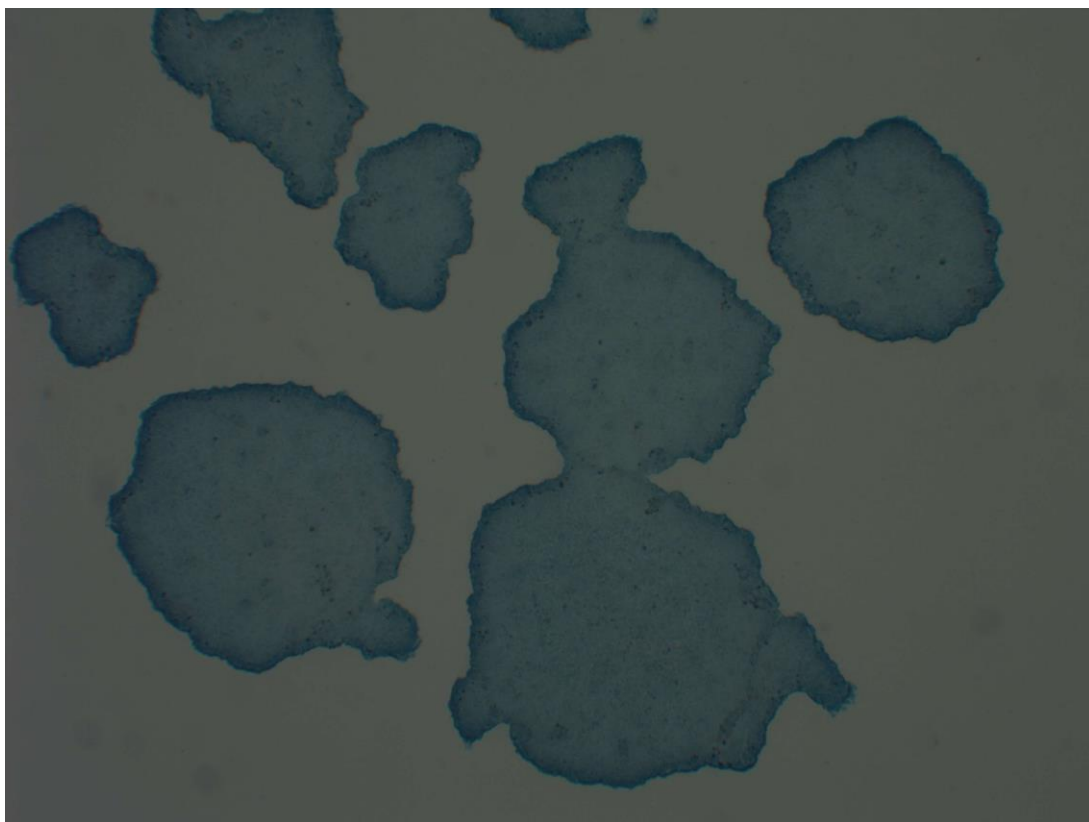
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

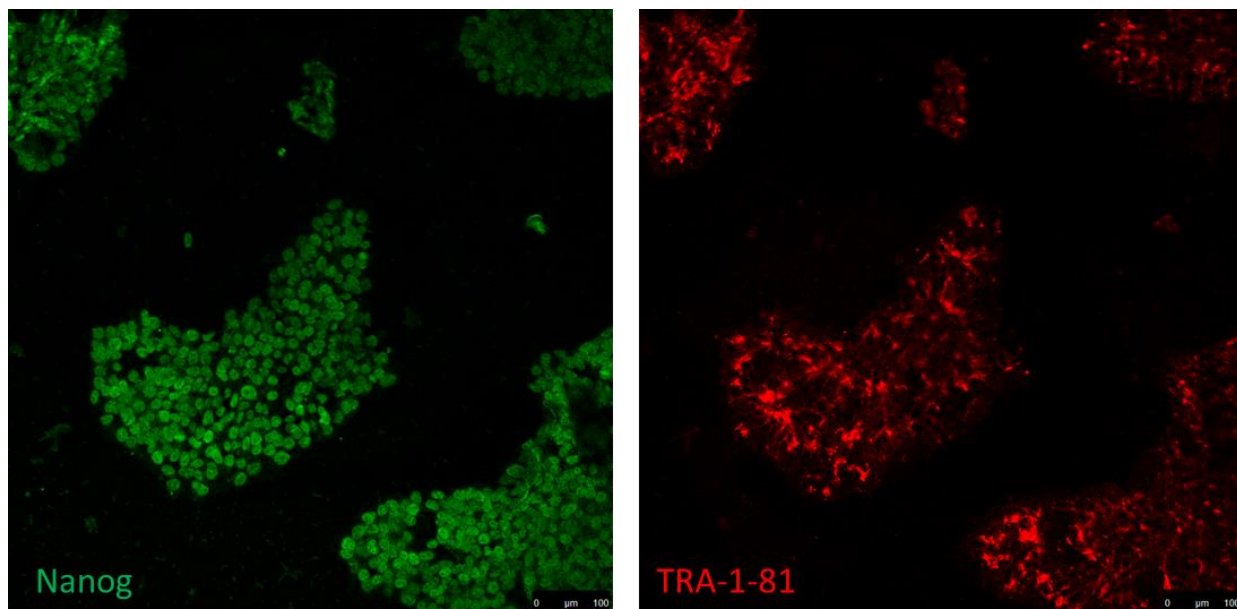


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

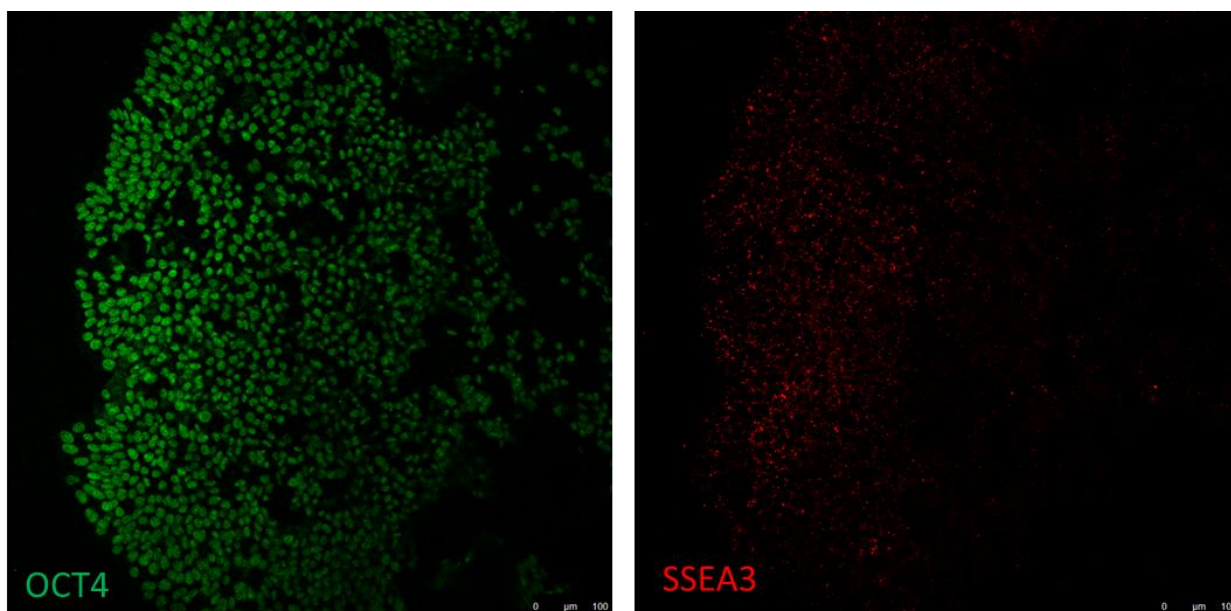


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



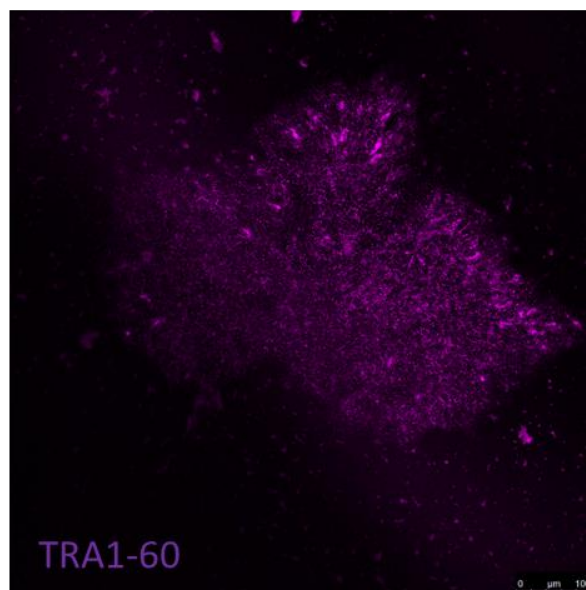
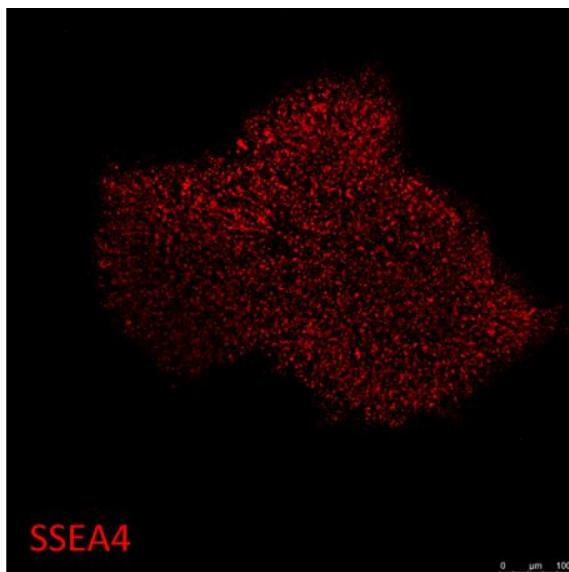
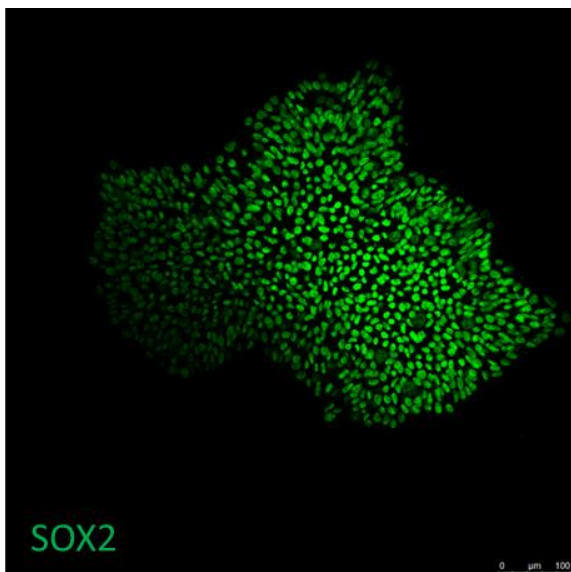
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



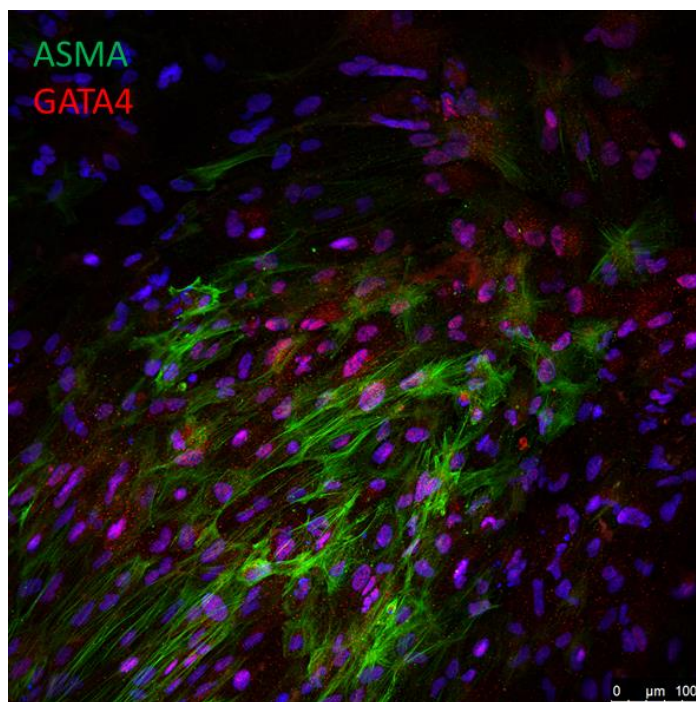
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

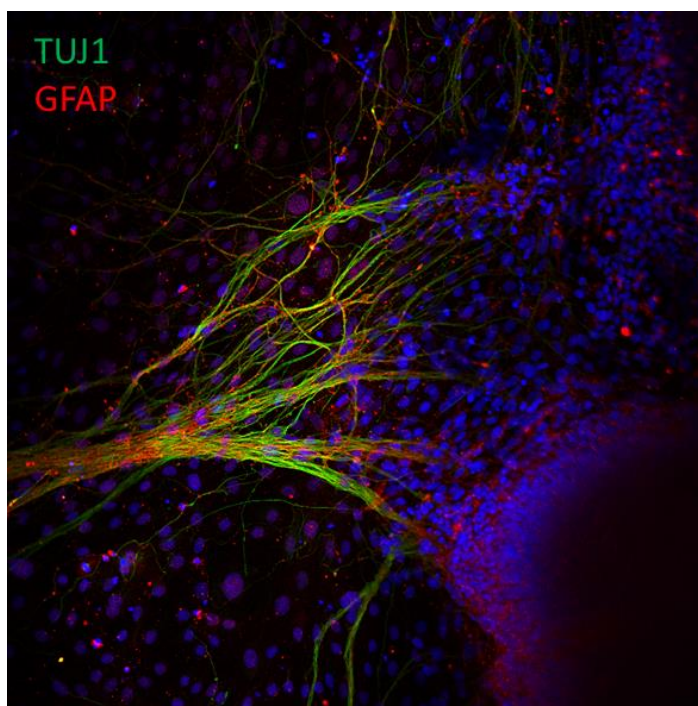


Anexo 2

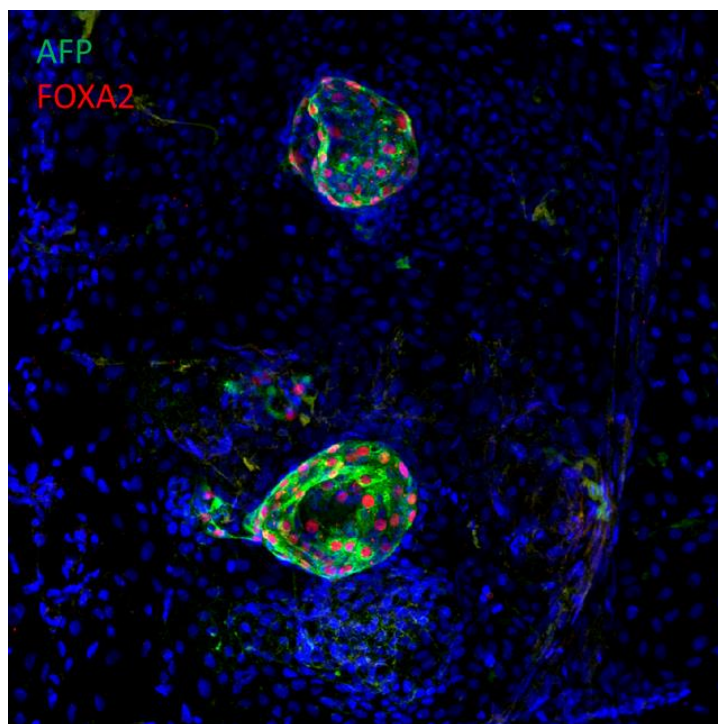
Diferenciación *in vitro*



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

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 13431077

Department: Idibell

NHC: CT0335

Sample: CM

Name: LD FiPS18338-Ep6F-3 p11

Date: 12/23/2021



Case: 13431077 Slide: 2 Cell: 1

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsátélites

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
LD FiPS1833e8-Ep6F-3	6; 9	31.2	12	11; 12	10; 11	11	10; 12	X; Y	14; 15	11; 12

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 UDP-18338, P7, 05.07.21	6; 9	31.2	12	11; 12	10; 11	11	10; 12	X; Y	14; 15	11; 12

Barcelona, a 14 de julio de 2021

Laboratorio Biología Molecular

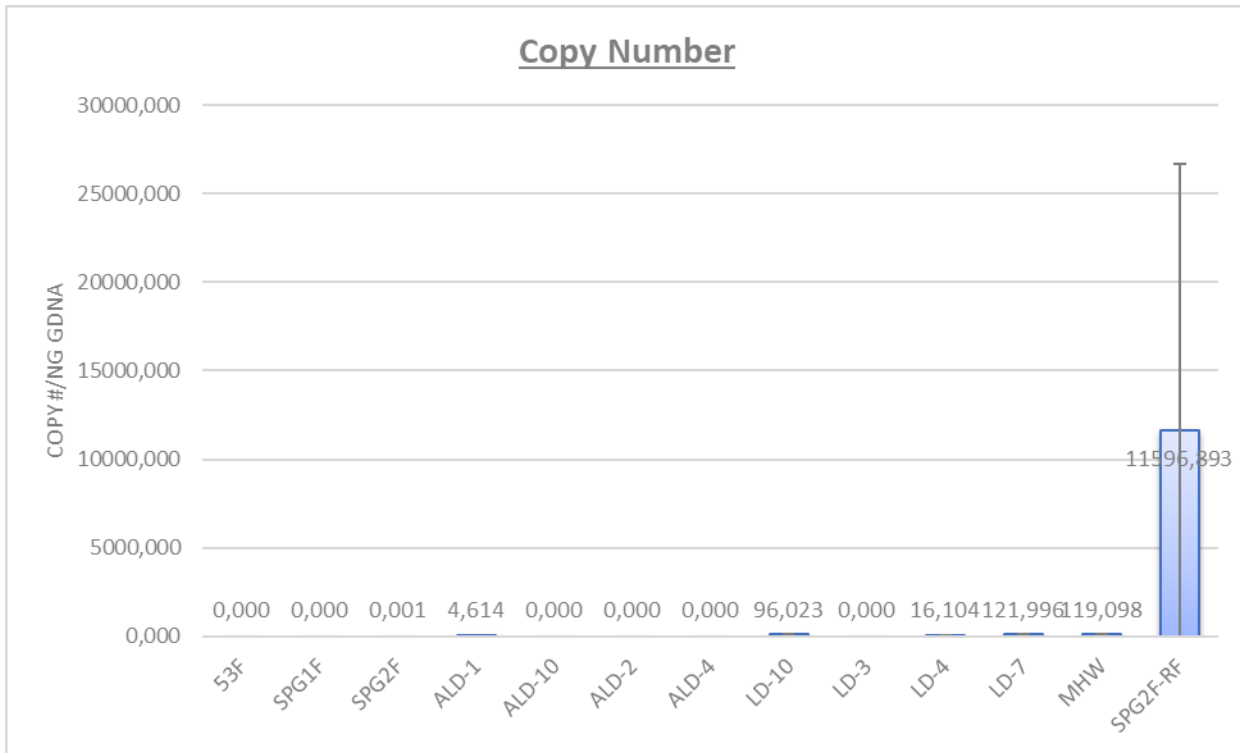
P-CMRC

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

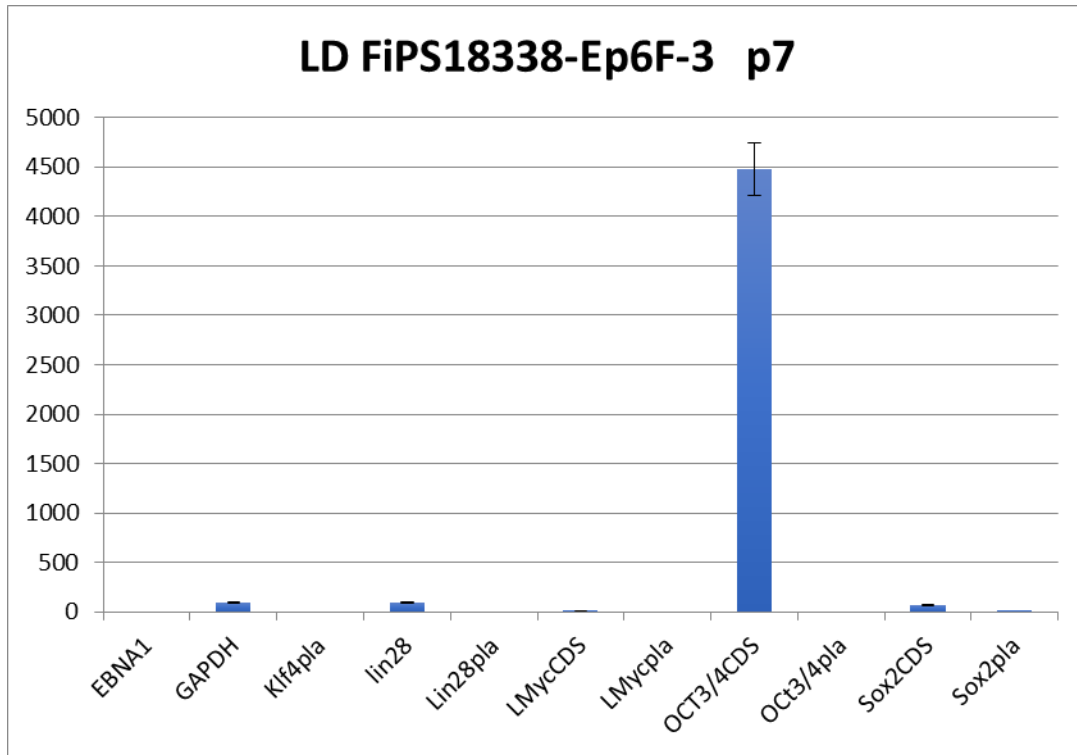


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC (LD-3 corresponde a la abreviación de **LD FiPS18338-Ep6F-3**) y en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG2F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección (**SPG2-RF**)



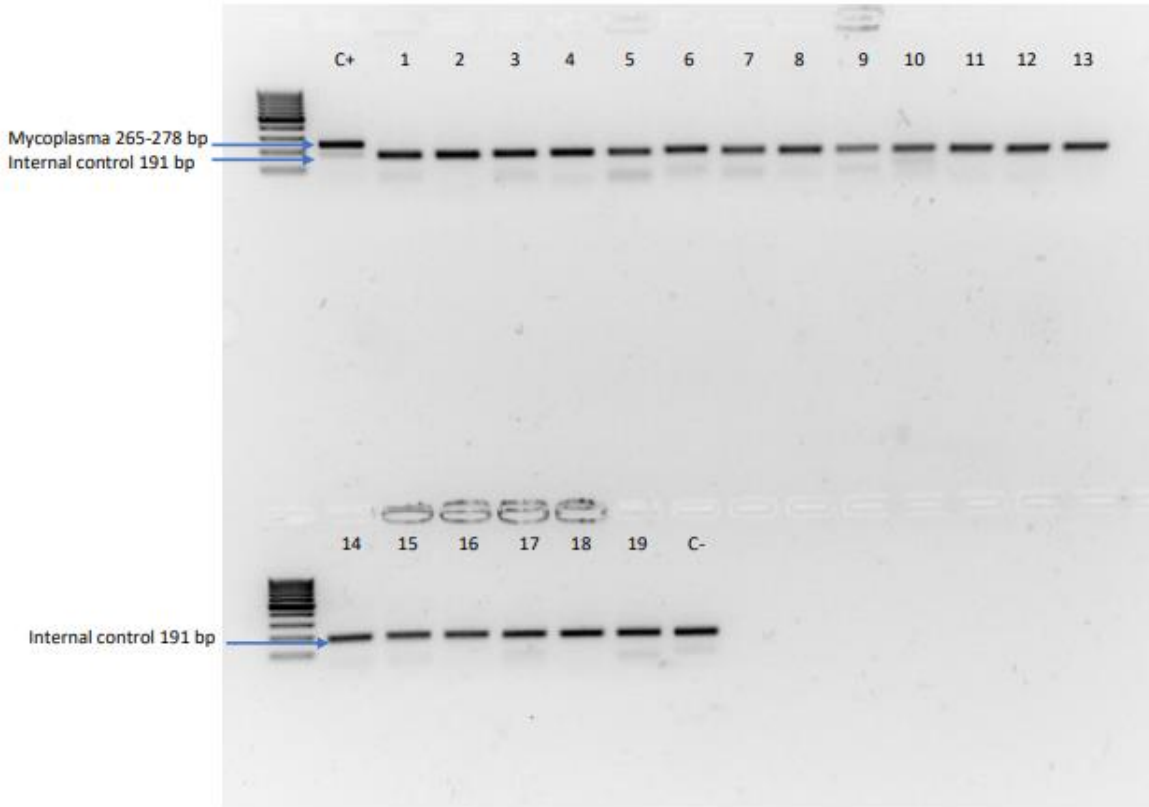
Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **LD FiPS18338-Ep6F-3**



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 24/11/2021



- 15. LD FiPS18338_Ep6F-3 p8
- 16. ALD FiPS1-Ep6F-2 p10
- 17. ALD FiPS1-Ep6F-6 p7
- 18. ALD FiPS1-Ep6F-11 p7
- 19. CD34 iPS1 Sv4F B8-MCB p20