

**ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR SWB FiPS159-R4F-8 EN EL  
BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES**

## **ANEXOS**

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

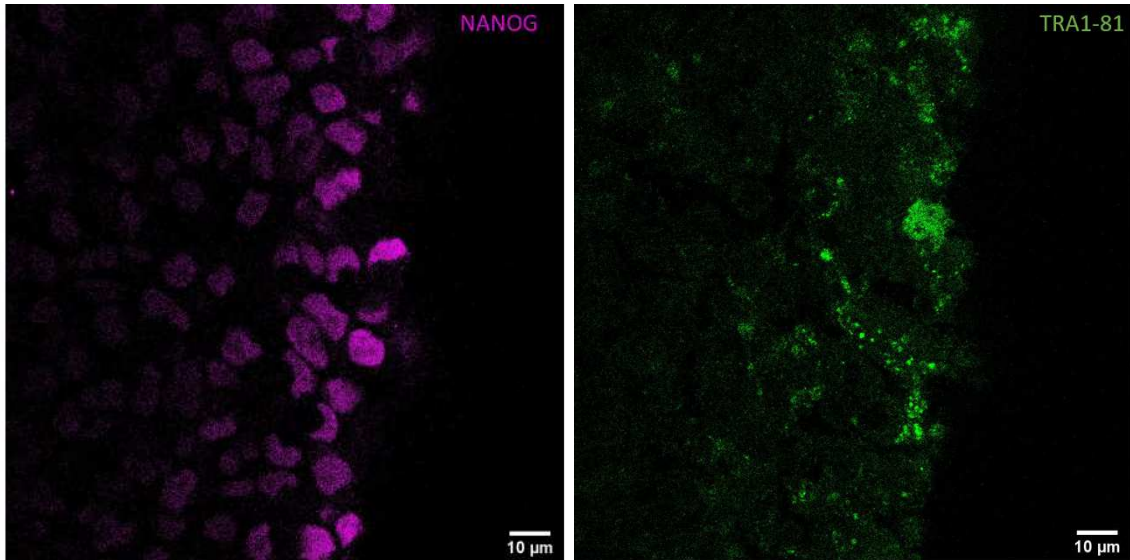
Anexo 4: Identificación celular: resultado análisis de microsatélites

Anexo 5: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

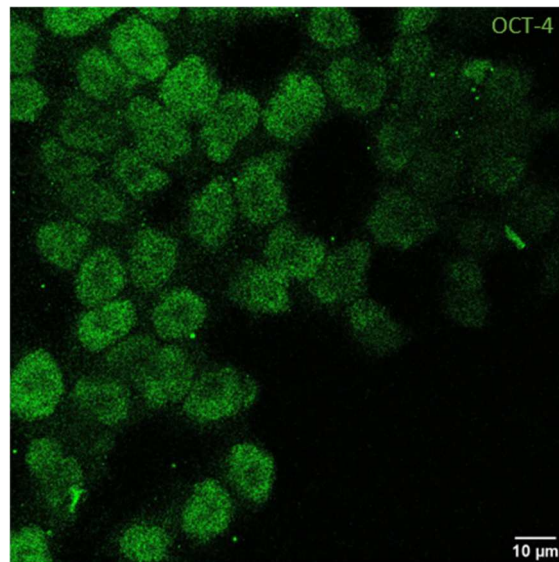
Anexo 6: Confirmación diagnóstico genotípico: MLPA

Anexo 7: Resultado Test de micoplasma

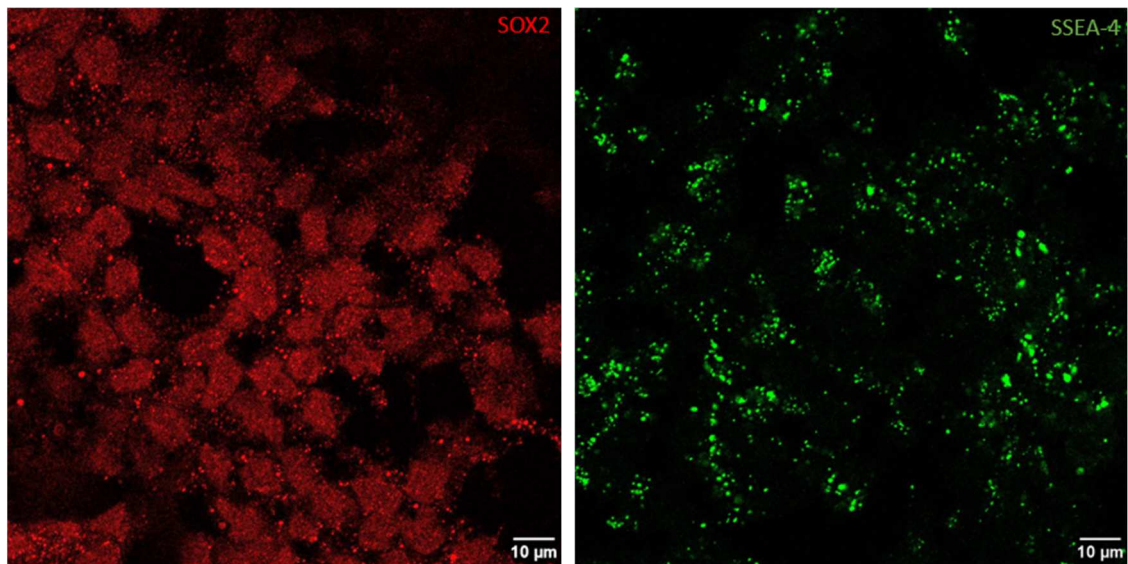
**Anexo 1**  
**Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **NANOG** y **TRA1-81**

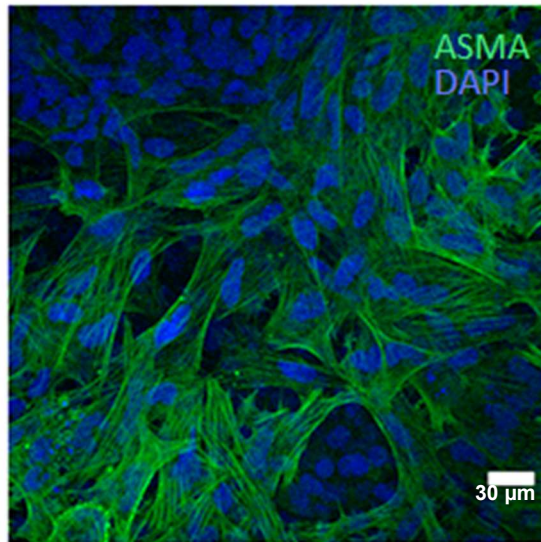


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **OCT-4**

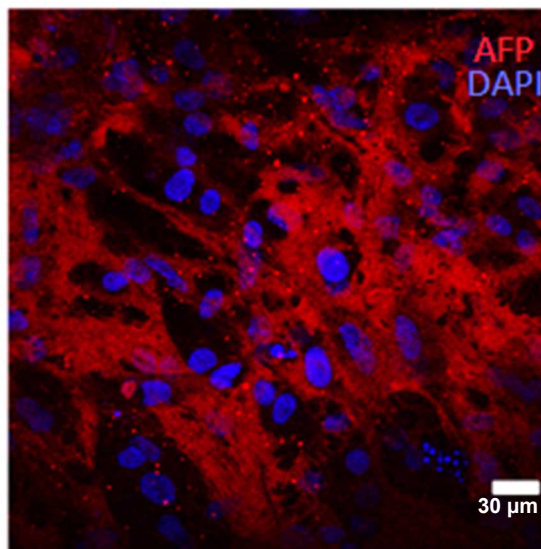


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **SOX2** y **SSEA-4**

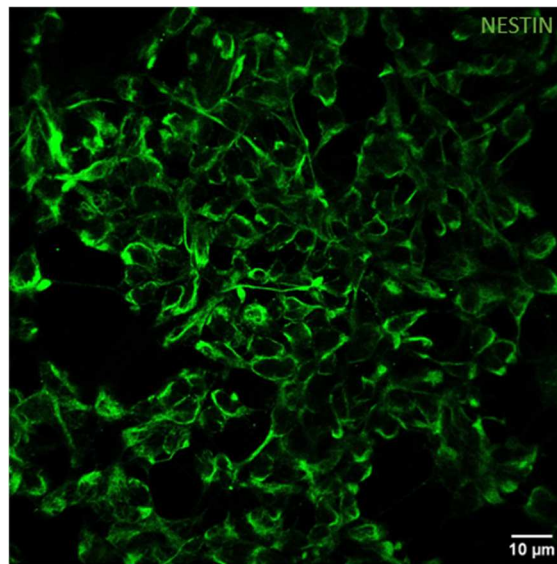
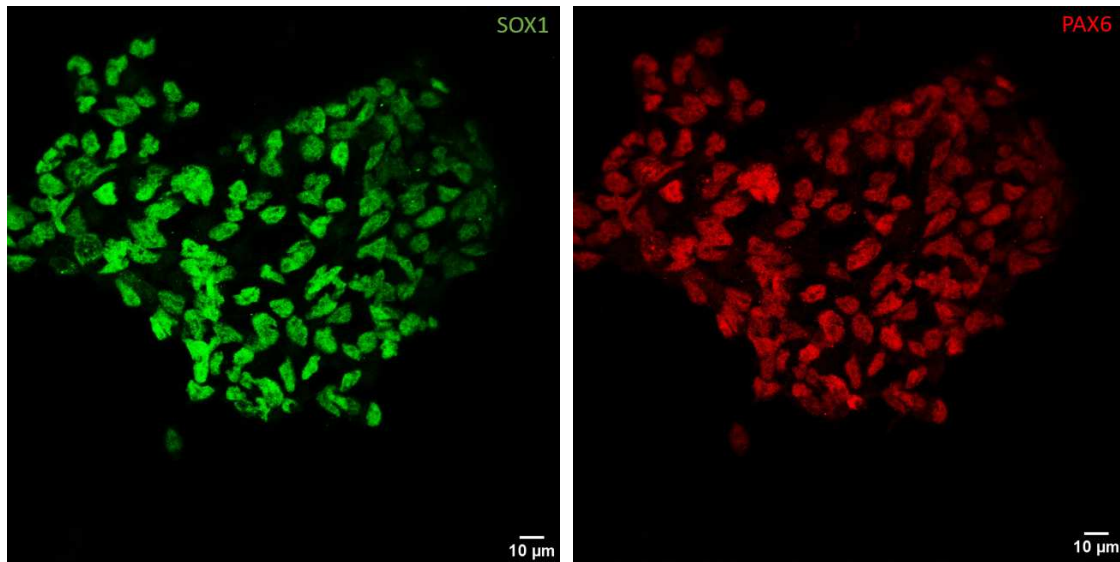
**Anexo 2**  
**Diferenciación *in vitro***



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para  $\alpha$ -smooth muscle actin (**ASMA**)



Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para  $\alpha$ -fetoprotein (**AFP**)



Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **SOX1**, **PAX6** y **NESTIN**



**Anexo 3**  
**Cariotipo**



- Nombre del paciente: SWB FiPS159.01-R4F-8 p13
- Resultado: 46, XY

**Anexo 4**  
**Identificación celular: resultado análisis de**  
**microsatélites**

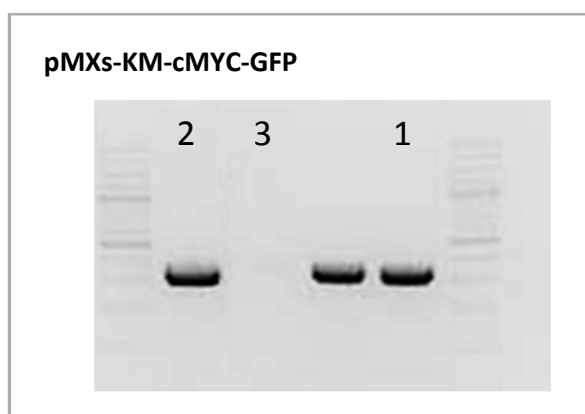
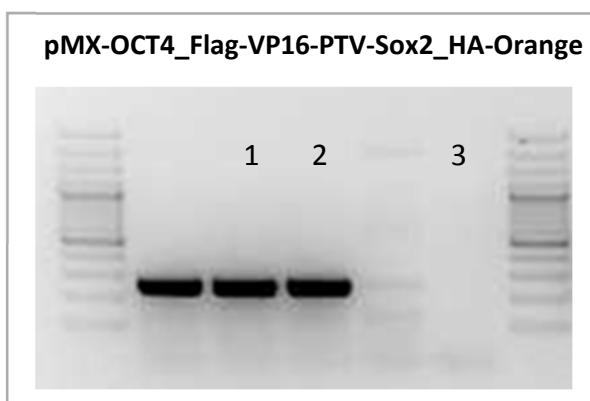
<b>Marcador</b>	<b>Rango (pares de bases)</b>	<b>Genotipo SWB FiPS159 RAF-8</b>	<b>Genotipo de referencia SWB159.01</b>
Amelogenin	Male	<b>Male</b>	Male
D13S158	99-113	<b>98/102</b>	98/102
D20S171	123-149	<b>132/136</b>	132/136
D11S1313	184-204	<b>187/191</b>	187/191
D16S3030	190-202	<b>186/192</b>	186/192
D16S3024	208-248	<b>222/222</b>	222/222
D8S284	243-273	<b>252/268</b>	252/268
D6S452	263-280	<b>270/270</b>	270/270
D16S2621	71-91	<b>74/78</b>	74/78
D14S276	86-98	<b>78/86</b>	78/86

**Anexo 5**  
**Integración y silenciamiento de los transgenes de  
reprogramación**

## Integration

20/10/2016

16/01/2017

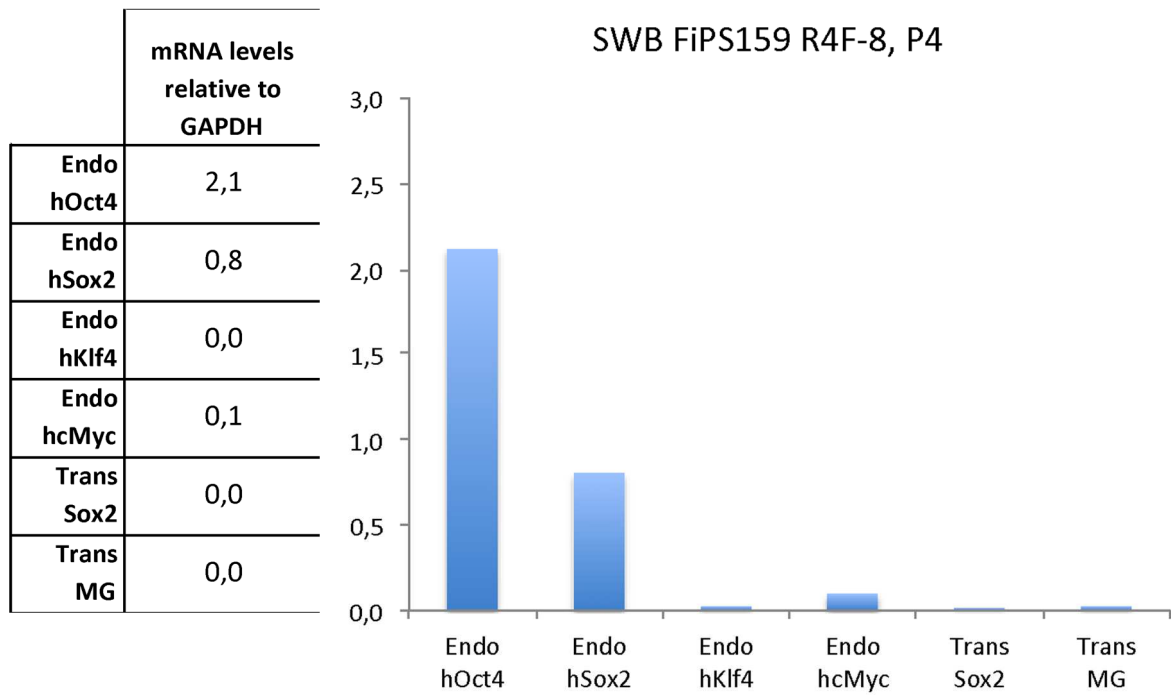


1. SWB FiPS159.01 R4F-8, P6
2. Positive Control
3. Negative Control (water)

Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los genes utilizados para generar la línea.

## Silencing

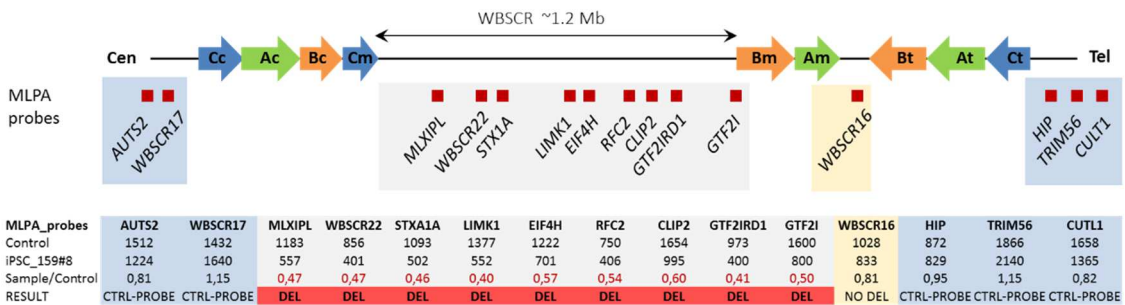
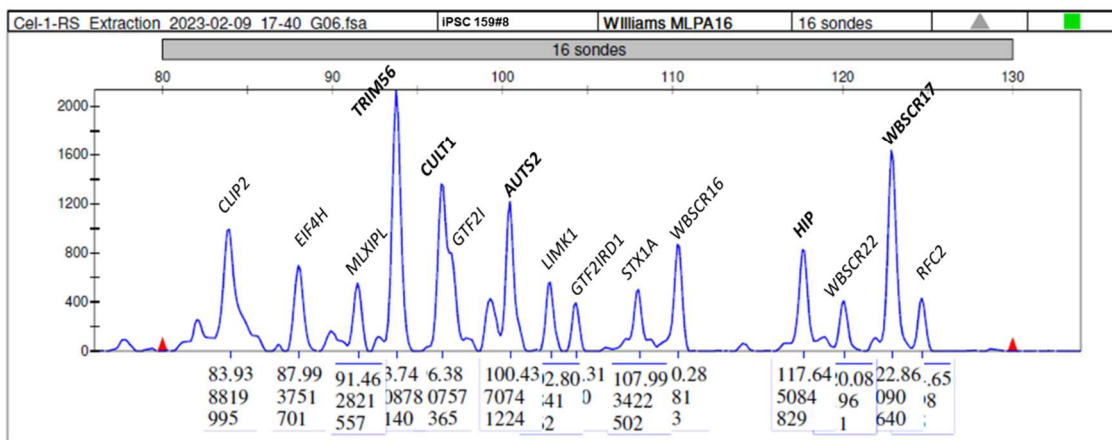
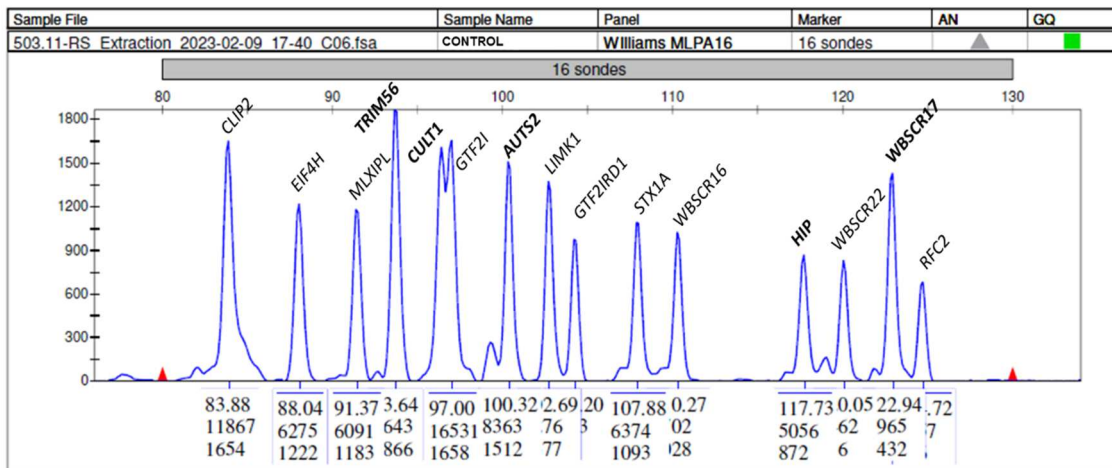
11/11/2016



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

**Anexo 6**  
**Confirmación diagnóstico genotípico: MLPA**

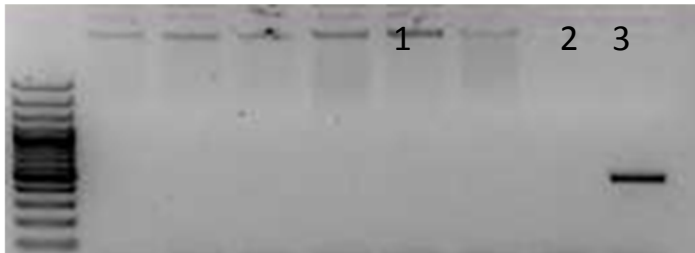




MLPA mostrando la presencia de la deleción de la región 7q11.23 en la línea de hiPSC.

**Anexo 7**  
**Resultado Test de micoplasma**

**MYCOPLASMA**  
**TEST**



1. SWB FiPS159 R4F-8, p7
2. Negative control (water)
3. Positive control