

**ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR DUPSW FiPS701-R4F-4 EN EL
BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES**

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

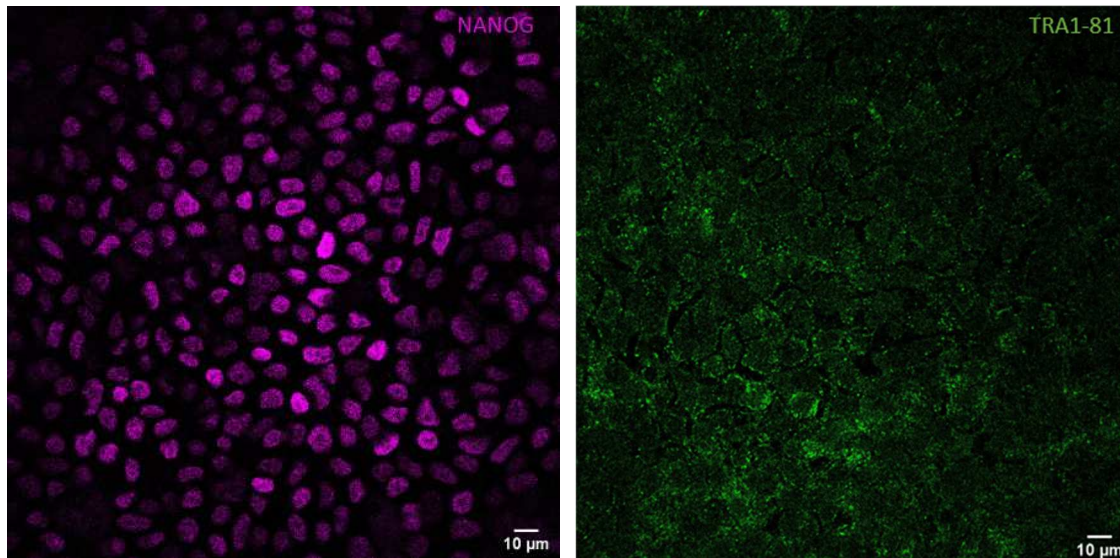
Anexo 4: Resultados microsatélites

Anexo 5: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

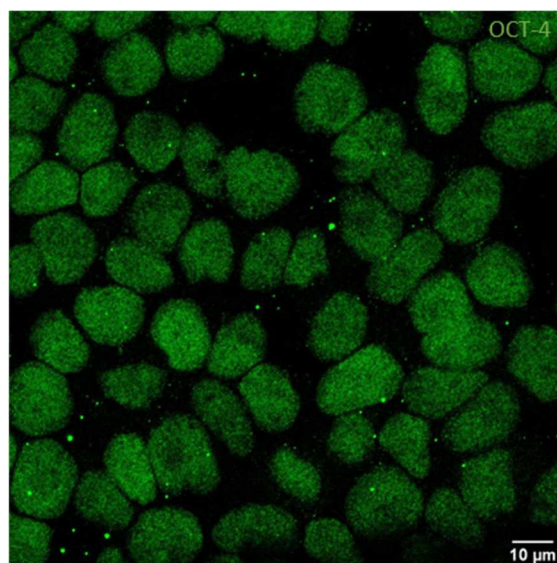
Anexo 6: Genotipado

Anexo 7: Resultado Test de micoplasma

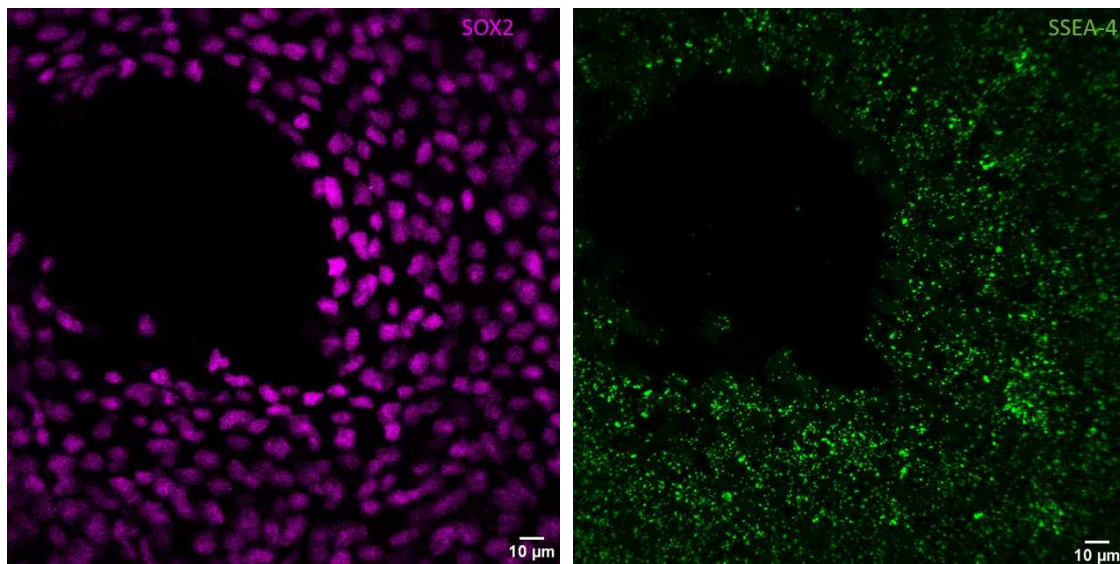
Anexo 1
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia



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

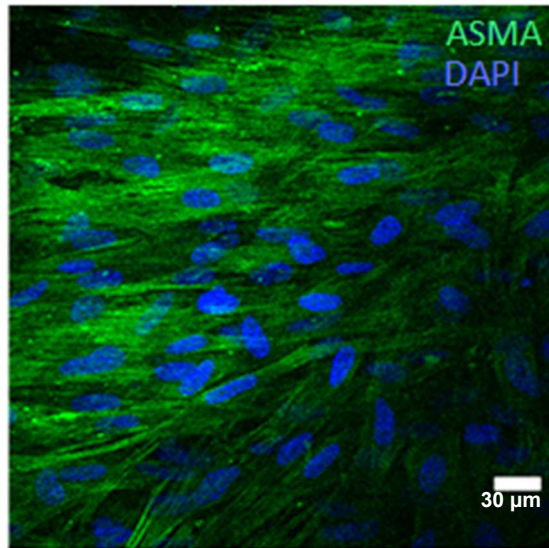


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **OCT-4**

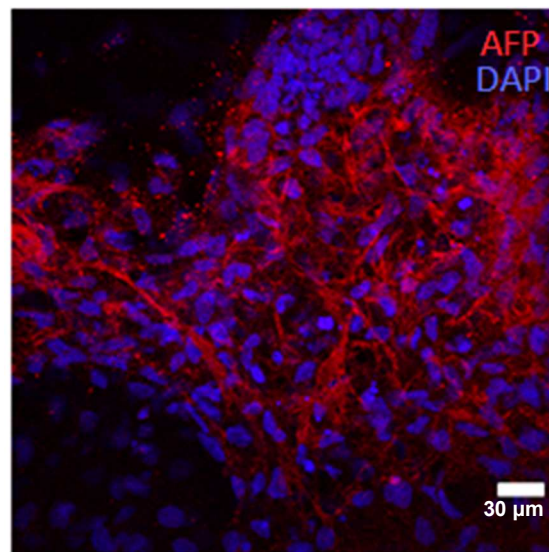


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **SOX2** y **SSEA-4**

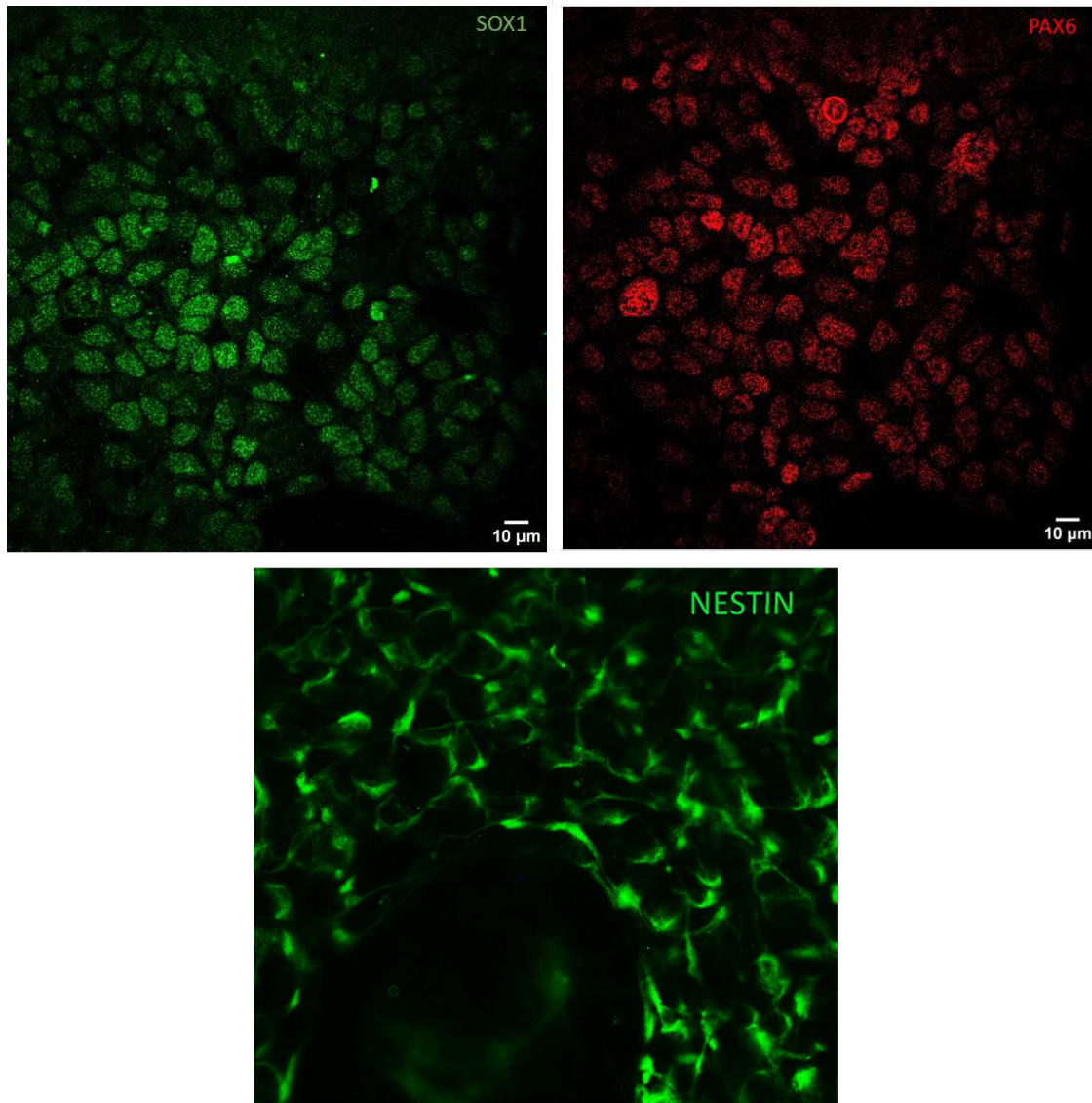
Anexo 2
Diferenciación *in vitro*



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



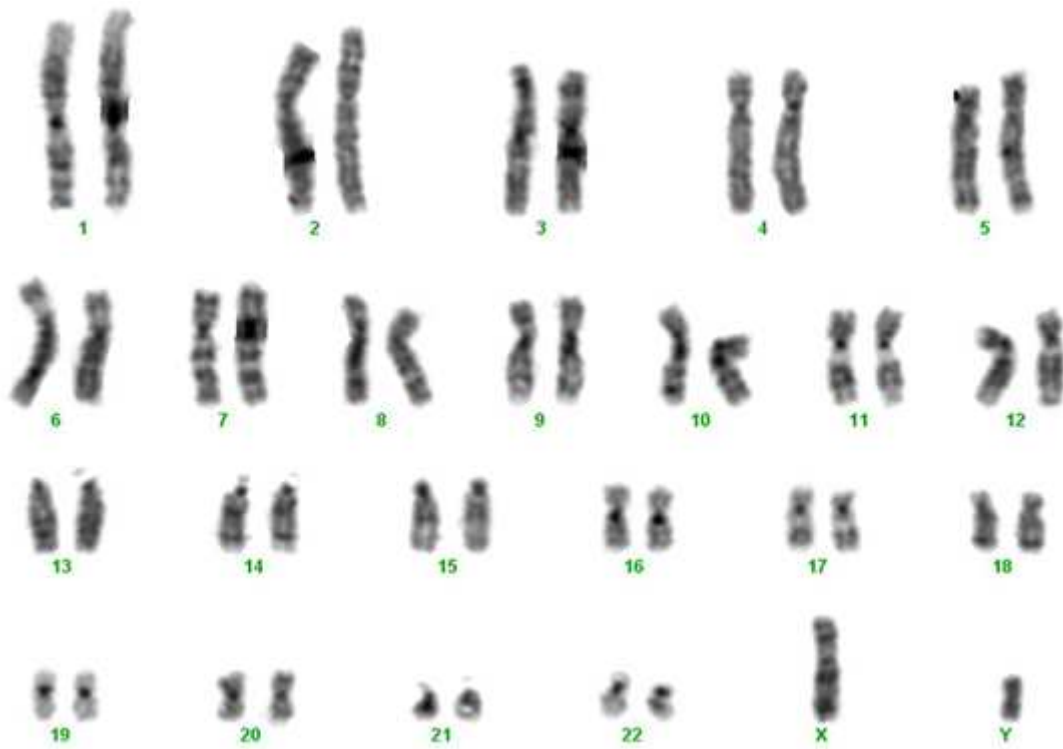
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para α -fetoprotein (**AFP**)



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

Anexo 3

Cariotipo



- Nombre del paciente: DUPSW FIPS701-R4F-4 p12

- Resultado: 46, XY

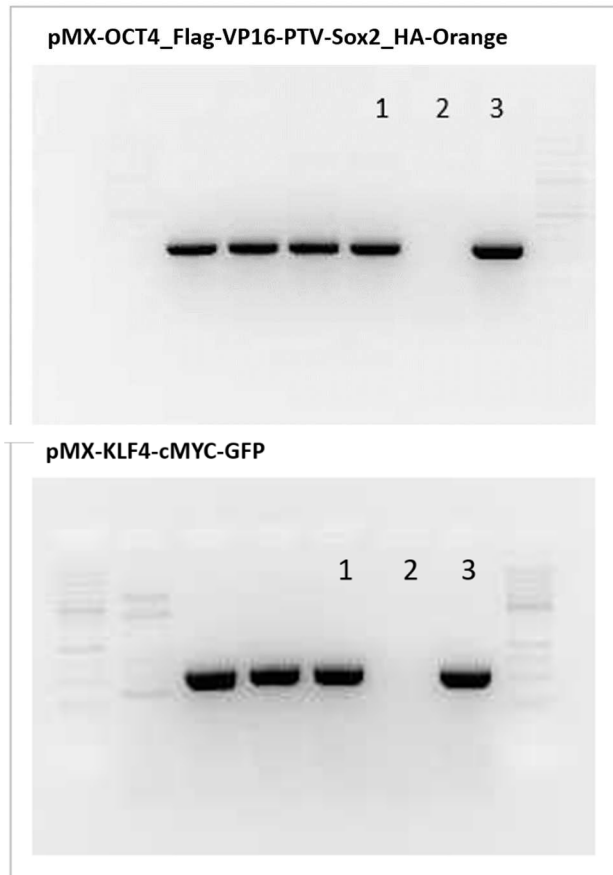
Anexo 4
Resultado microsátélites

Marcador	Rango (pares de bases)	Genotipo DUPSW FiPS 701 R4F#4	Genotipo de referencia DUPSW7.01
Amelogenin	Male	Male	Male
D13S158	99-113	92/98	92/98
D20S171	123-149	132/144	132/144
D11S1313	184-204	190/194	190/194
D16S3030	190-202	186/198	186/198
D16S3024	208-248	223/223	223/223
D8S284	243-273	2521/252	2521/252
D6S452	263-280	264/272	264/272
D16S2621	71-91	78/82	78/82
D14S276	86-98	83/91	83/91

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

INTEGRATION

07/09/2016

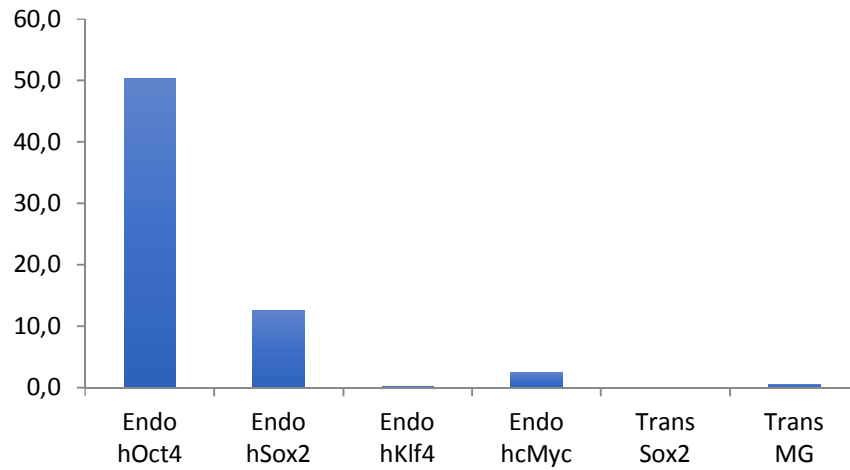


1. DUPSW FiPS701-R4F-4 p11
2. Negative Control (H₂O)
3. Positive Control

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

M16114
Silencing qPCR
28/06/16

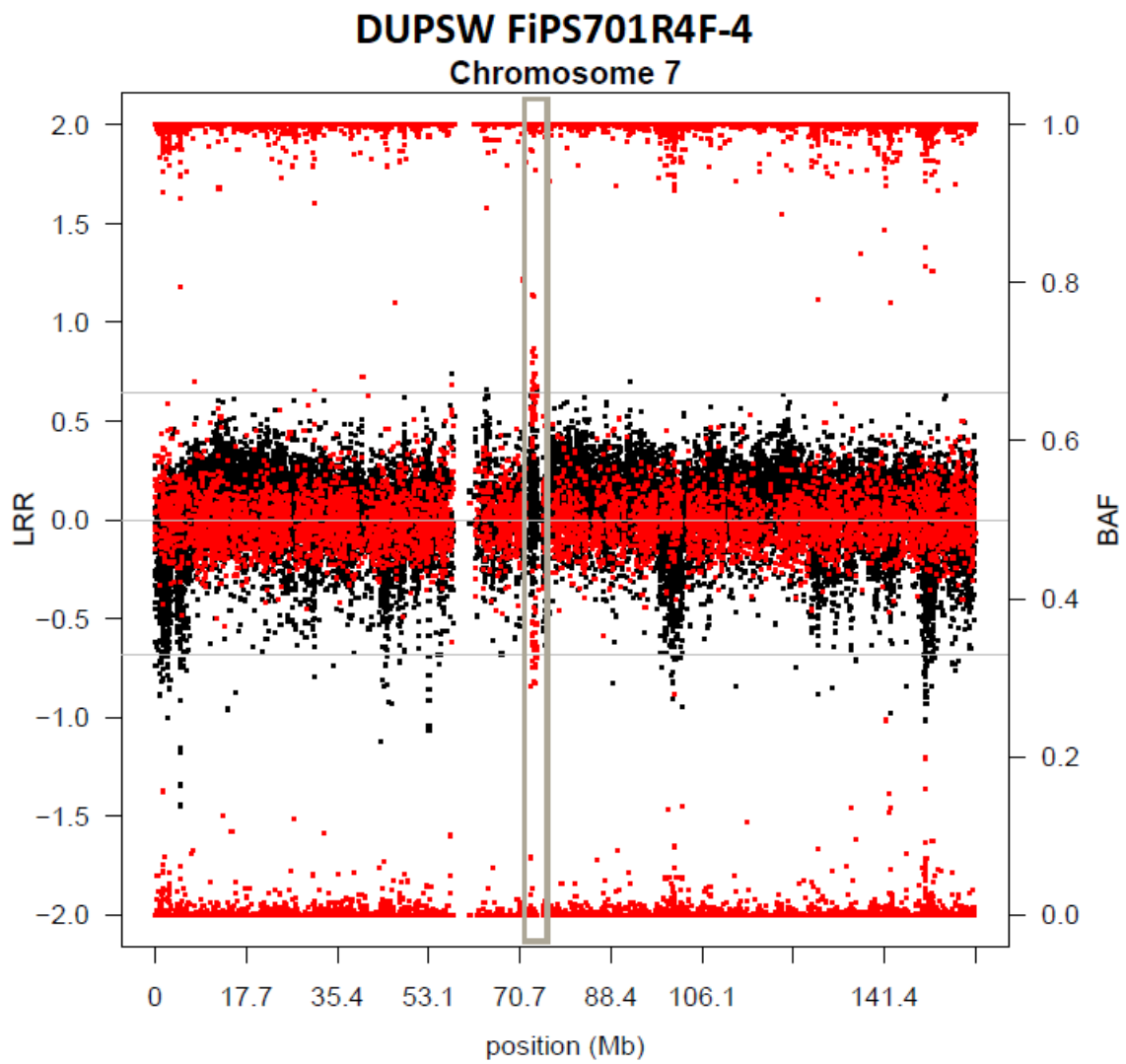
DUPSW FiPS701 R4F-4
(p10, mg, 03.08.16)



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

Genotipado



SNP-array 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. **DUPSW FiPS 7.01 R4F-4, p8, mg+2**
2. Positive Control
3. Negative Control