

**ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR DUPSW FiPS501-R4F-5 EN EL
BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES**

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

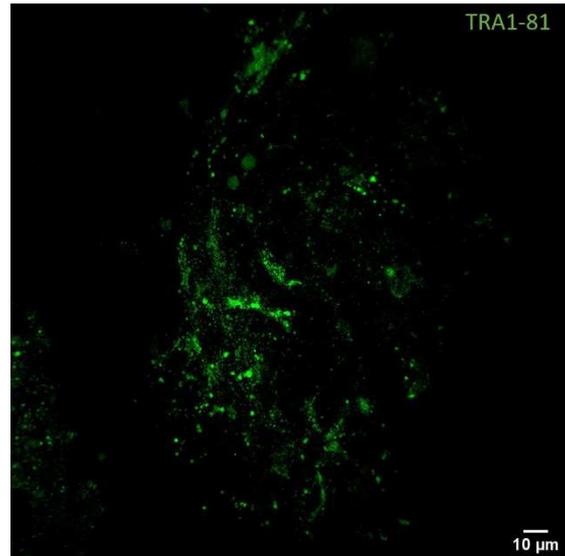
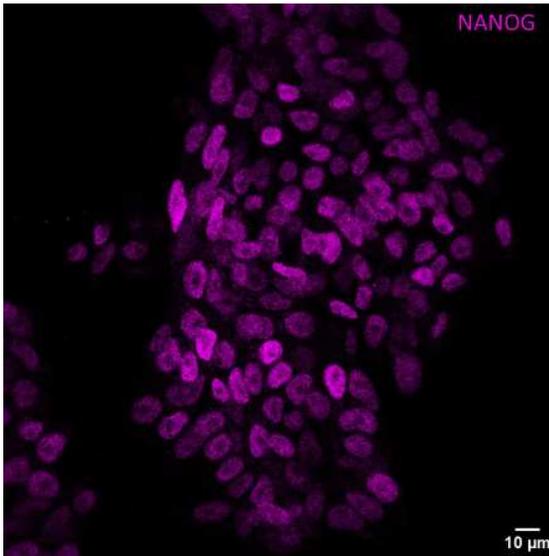
Anexo 4: Resultados microsatélites

Anexo 5: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

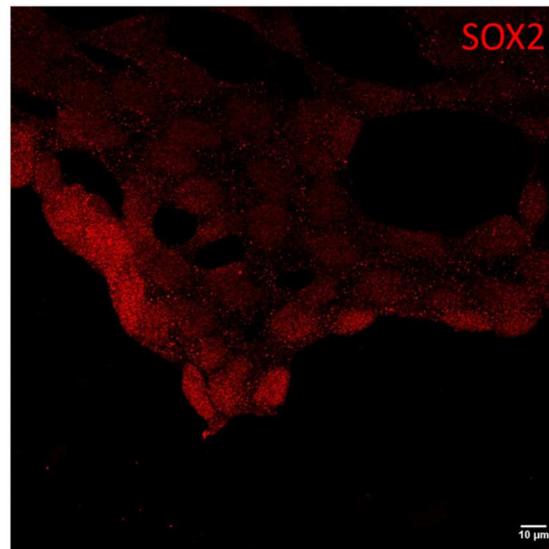
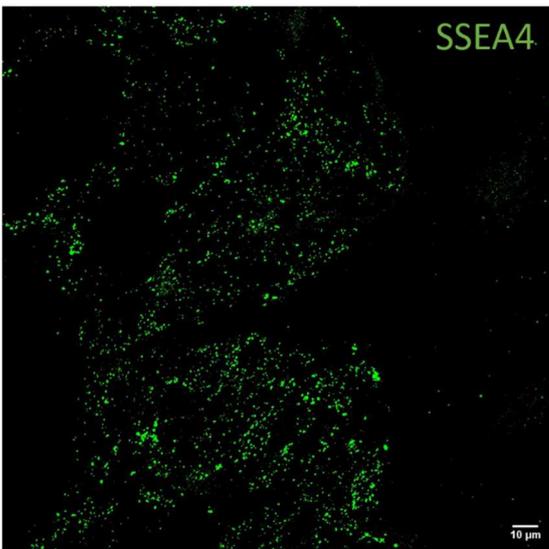
Anexo 6: Genotipado

Anexo 7: Resultado Test de micoplasma

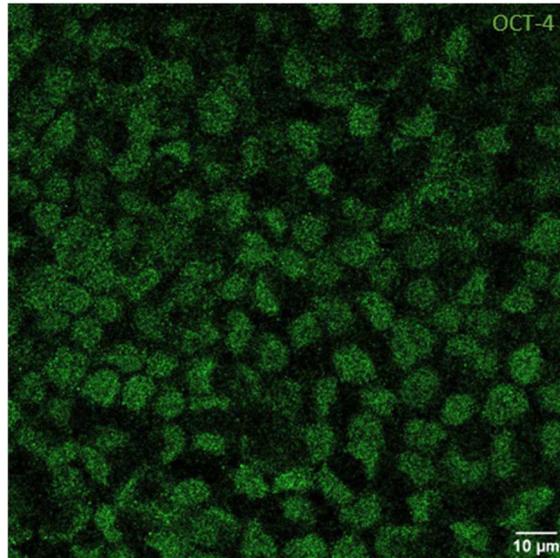
Anexo 1
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia



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

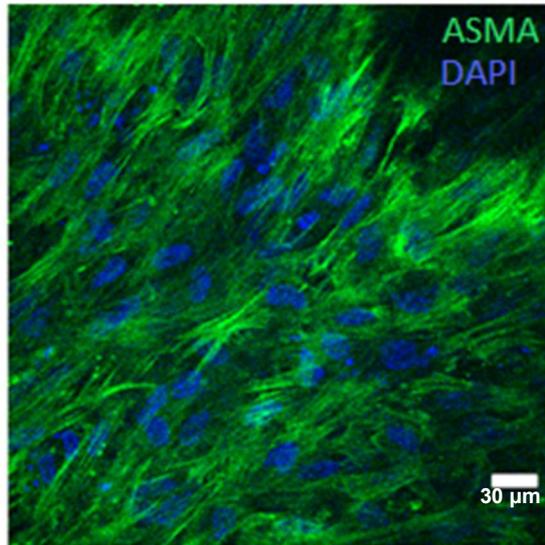


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **SSEA4** y **SOX2**

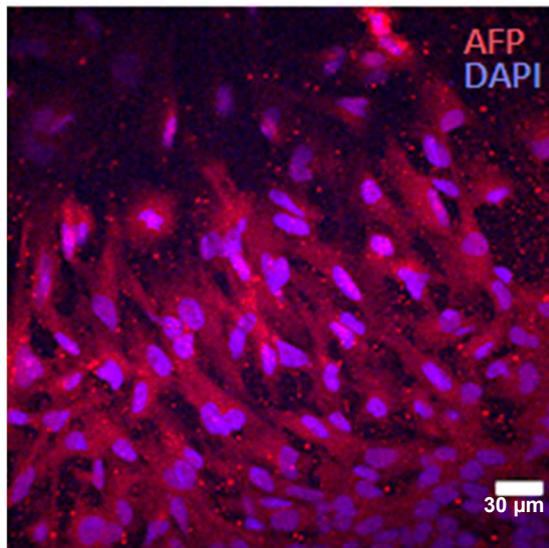


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **OCT-4**

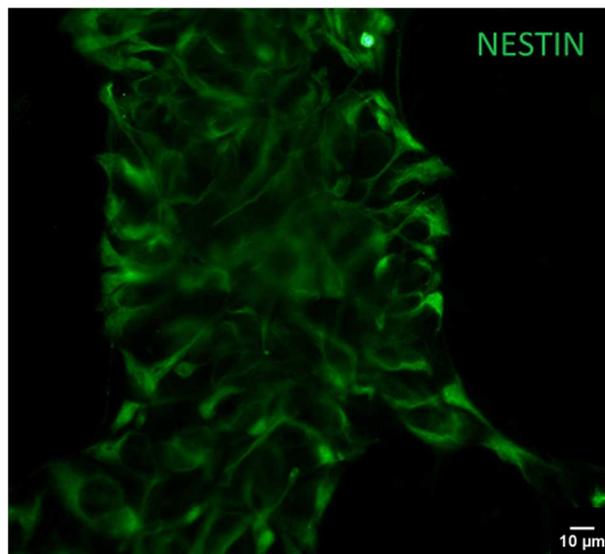
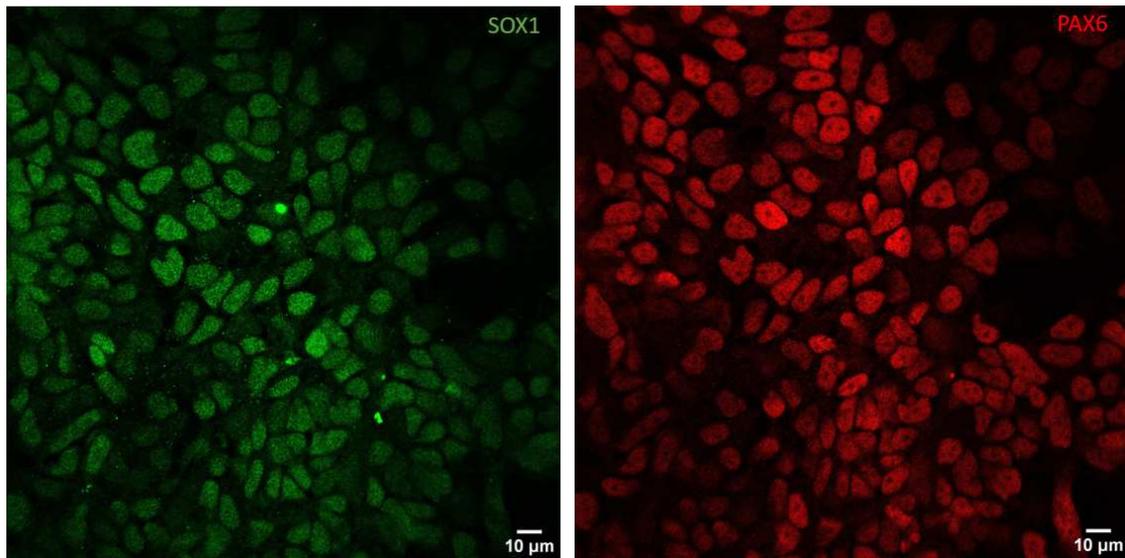
Anexo 2
Diferenciación *in vitro*



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

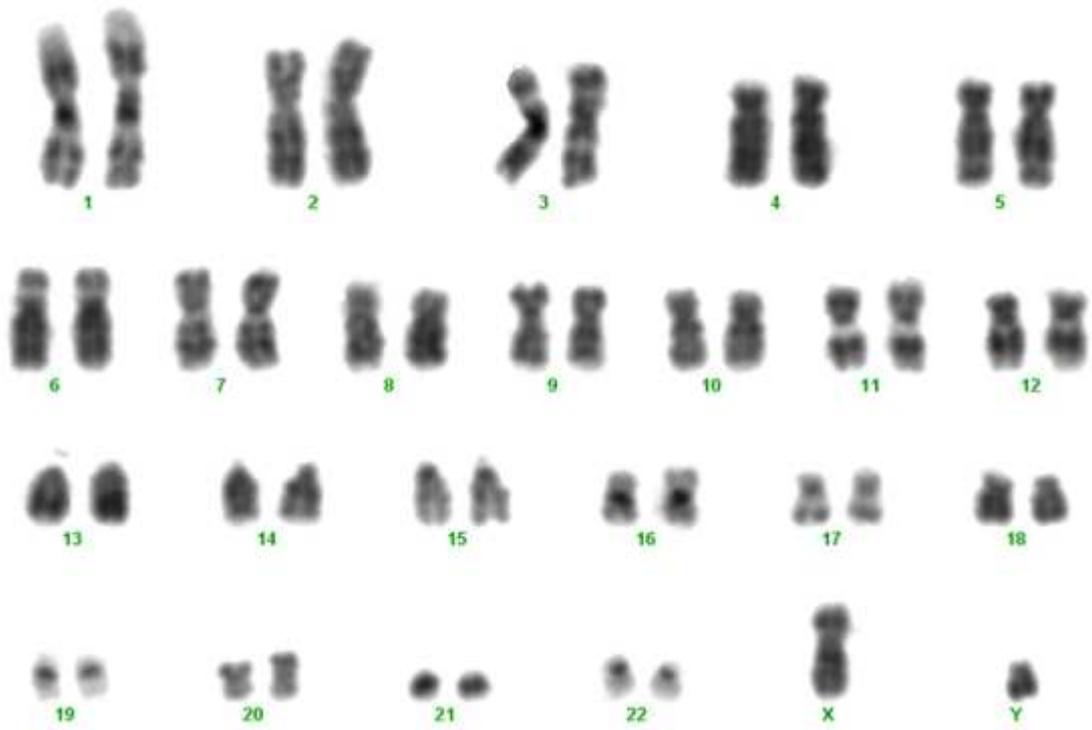


Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para α -fetoprotein (**AFP**)



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

Anexo 3
Cariotipo



- Nombre del paciente: DUPSW-FiPS501-R4F-5 p9
- Resultado: 46, XY

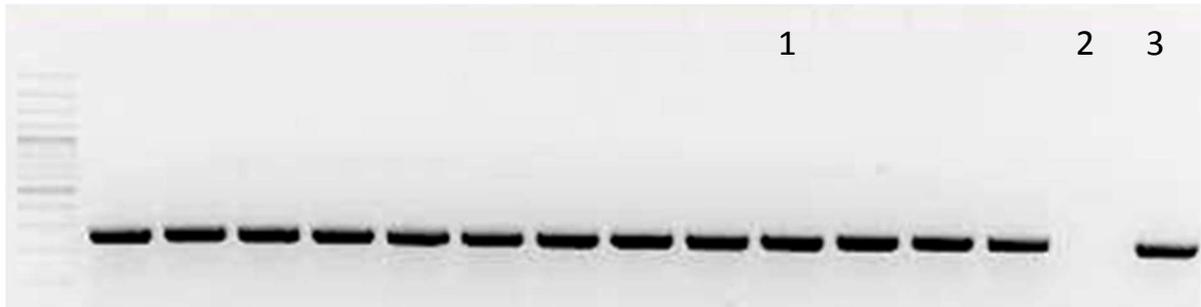
Anexo 4
Resultado microsatélites

Marcador	Rango (pares de bases)	Genotipo DUPSW FiPS 501 R4F#5	Genotipo de referencia DUPSW5.01
Amelogenin	Male	Male	Male
D13S158	99-113	96/100	96/100
D20S171	123-149	132/132	132/132
D11S1313	184-204	190/190	190/190
D16S3030	190-202	197/197	197/197
D16S3024	208-248	222/222	222/222
D8S284	243-273	240/258	240/258
D6S452	263-280	270/274	270/274
D16S2621	71-91	74/78	74/78
D14S276	86-98	84/86	84/86

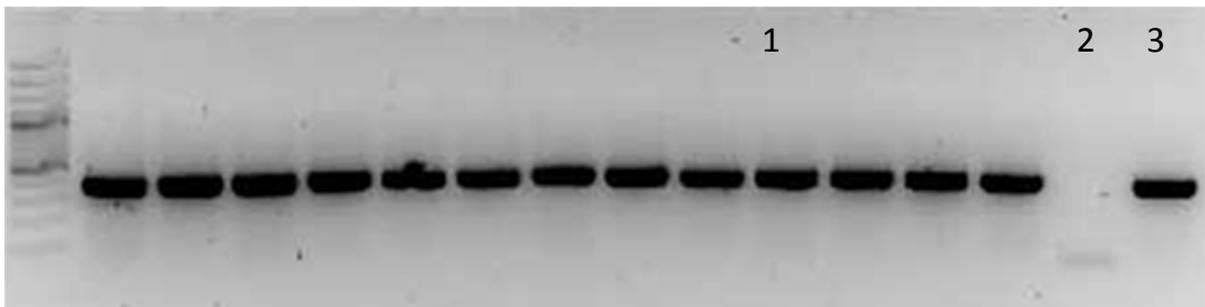
Anexo 5
**Integración y silenciamiento de los transgenes de
reprogramación**

M16091
INTEGRATION
PCR

OCT4 – SOX2



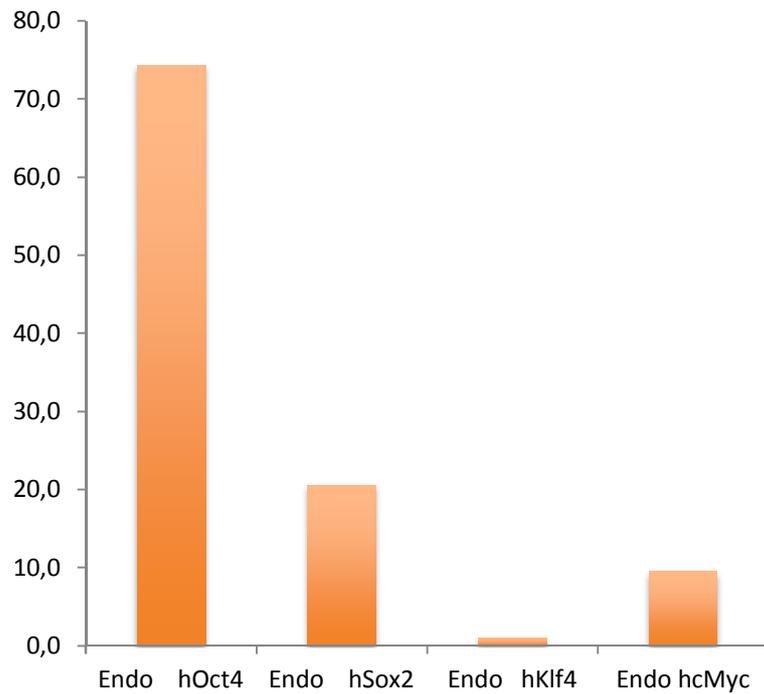
KLF4 - cMYC



- 1.-DUPSW FiPS 501 R4F#5, P9
- 2.-Negative Control (H2O)
- 3.-Positive Control

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

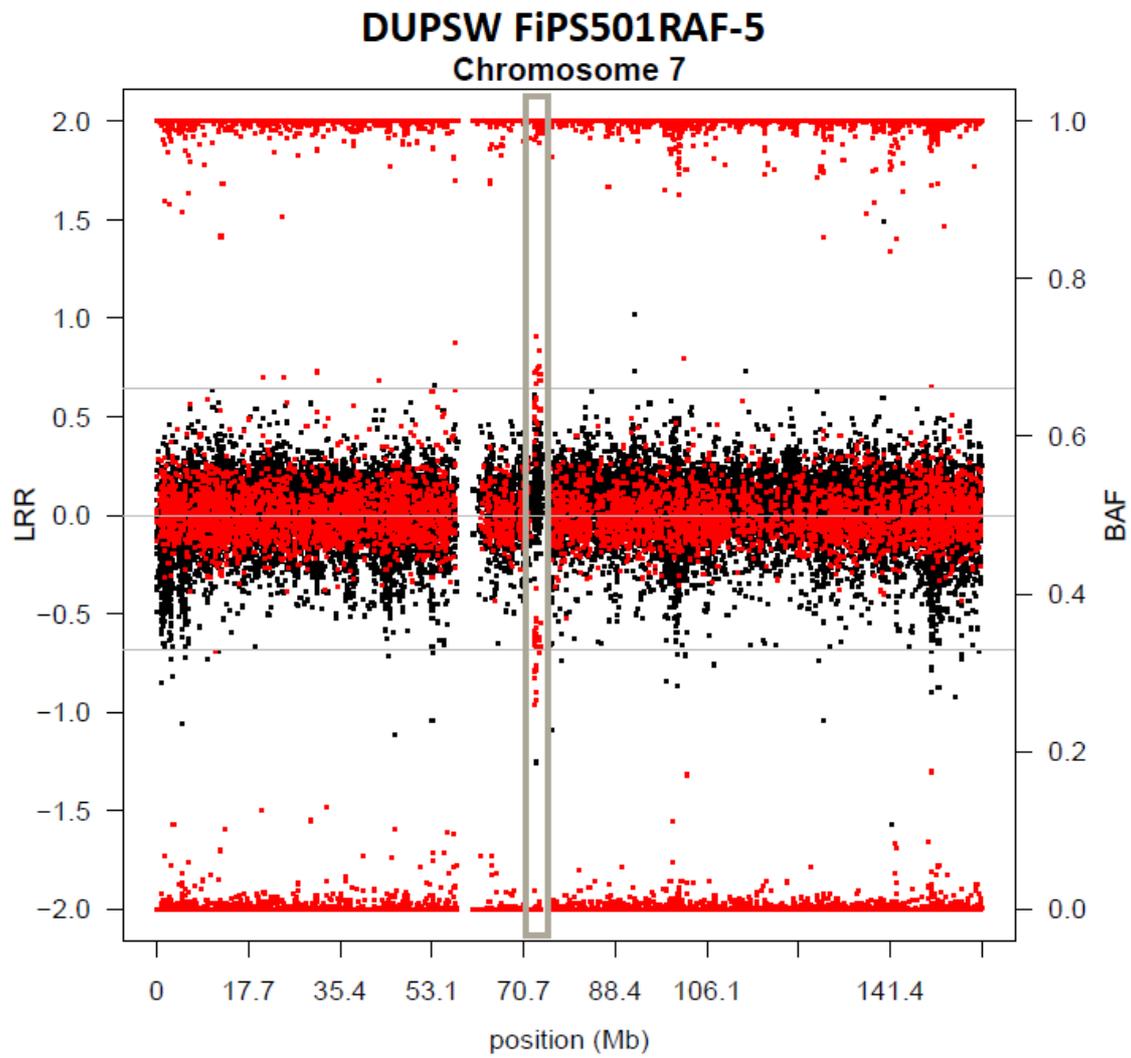
DUPSW FiPS 501 R4F#5, P9, mg, 06.06.2016



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

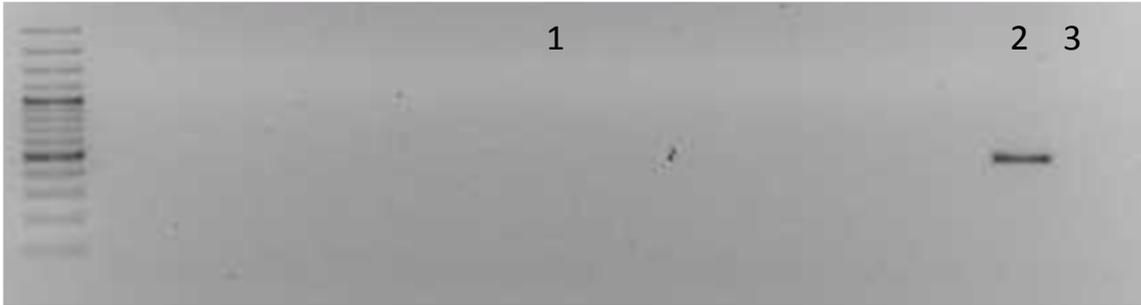
Genotipado



SNP-array mostrando la presencia de la delección de la región 7q11.23 en la línea de hiPSC.

Anexo 7
Resultado Test de micoplasma

MYCOPLASMA
TEST



1. **DUPSW FiPS 5.01 R4F-4, p8, mg+2**
2. Positive Control
3. Negative Control