



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **GNB1 FiPS1-Ep6F-1** 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

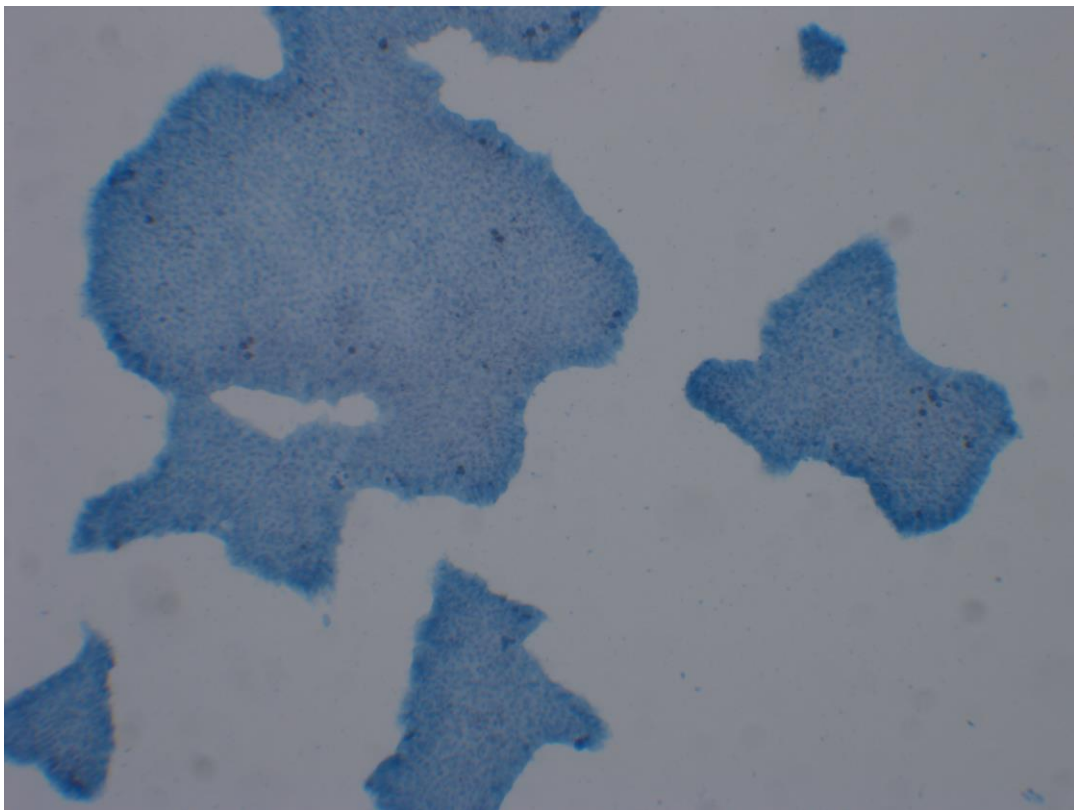
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

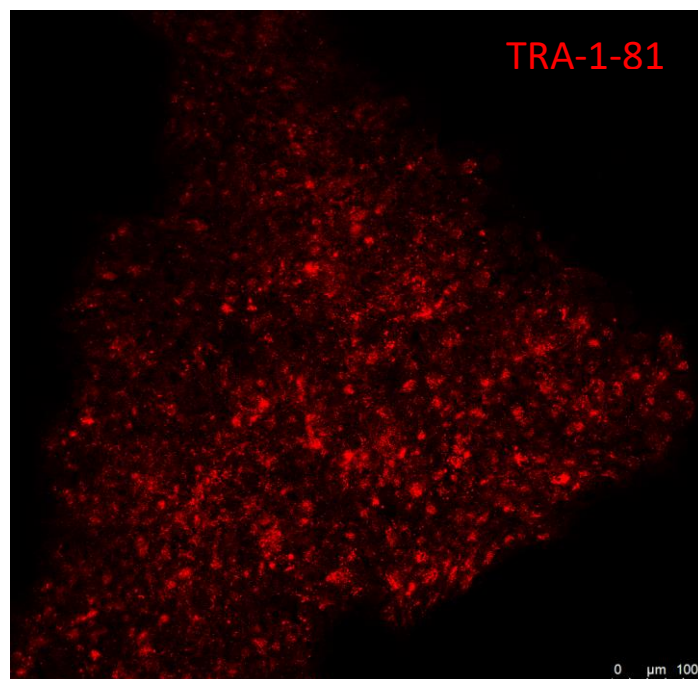
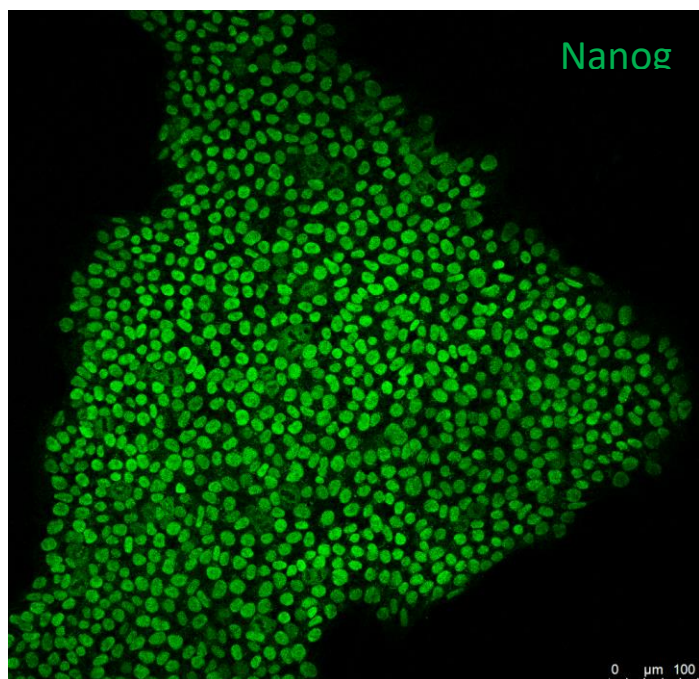


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

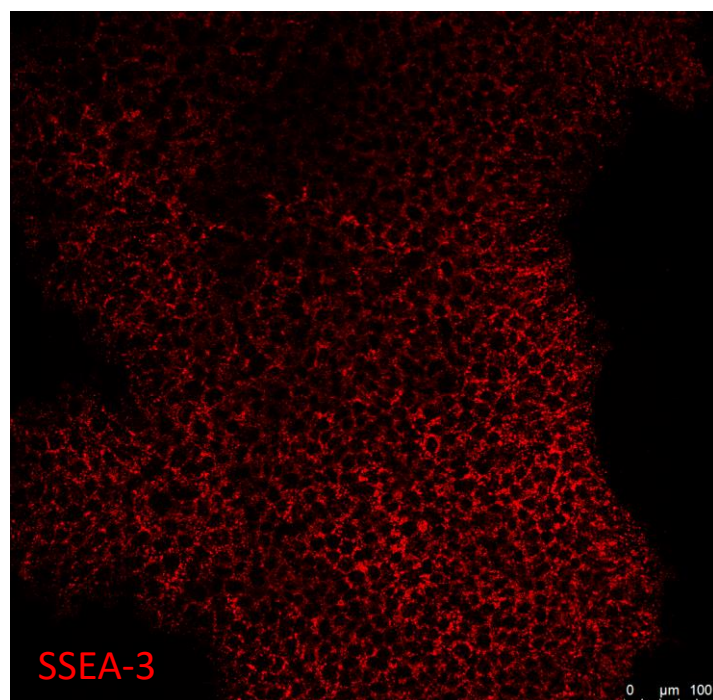
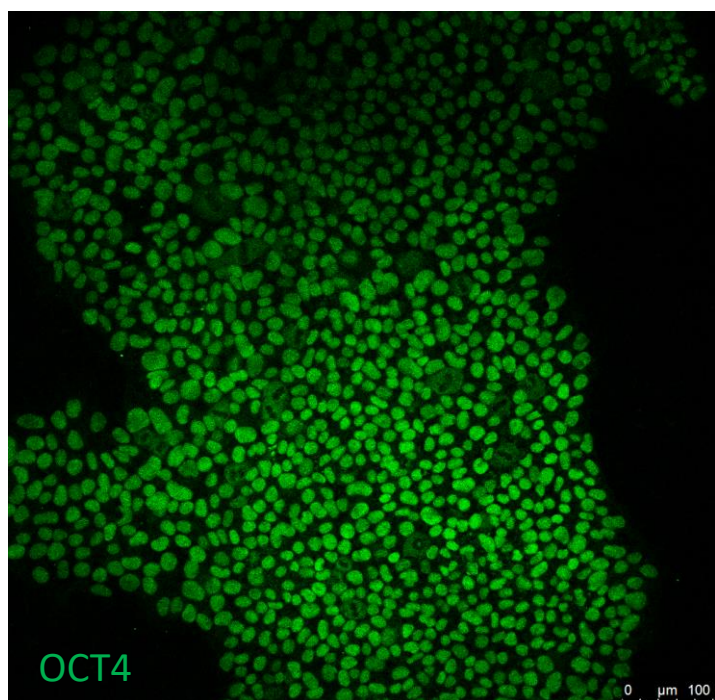


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



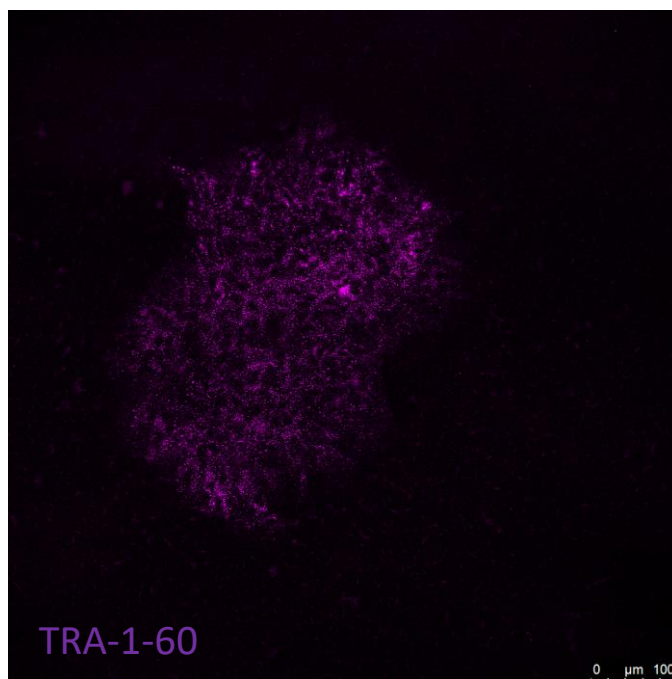
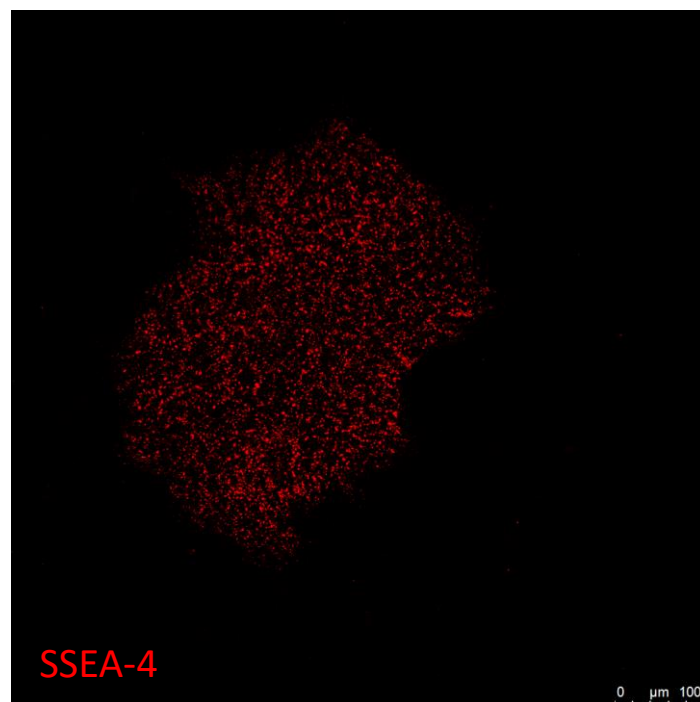
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3

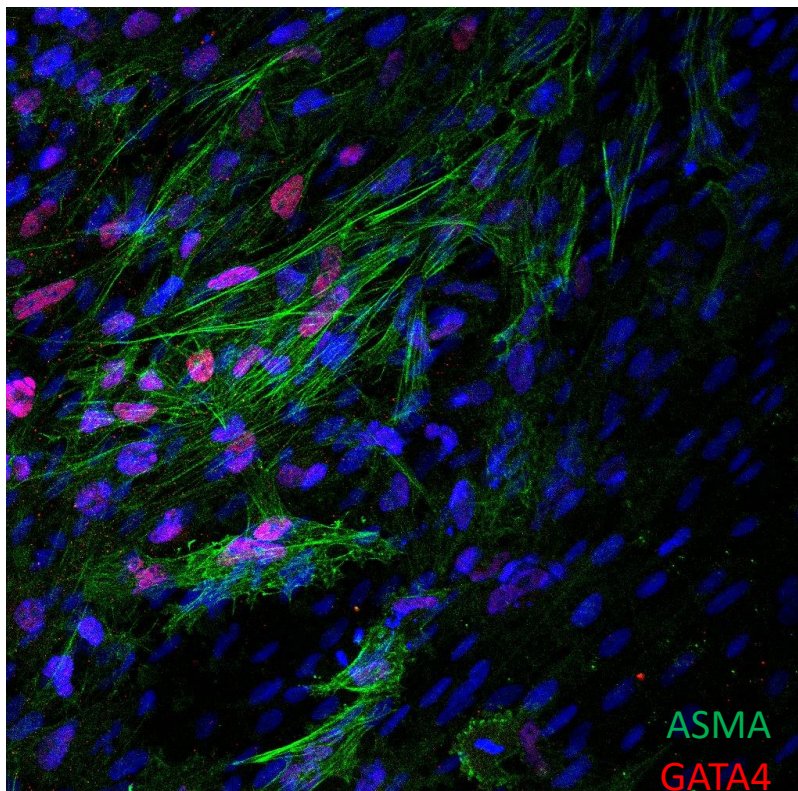


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

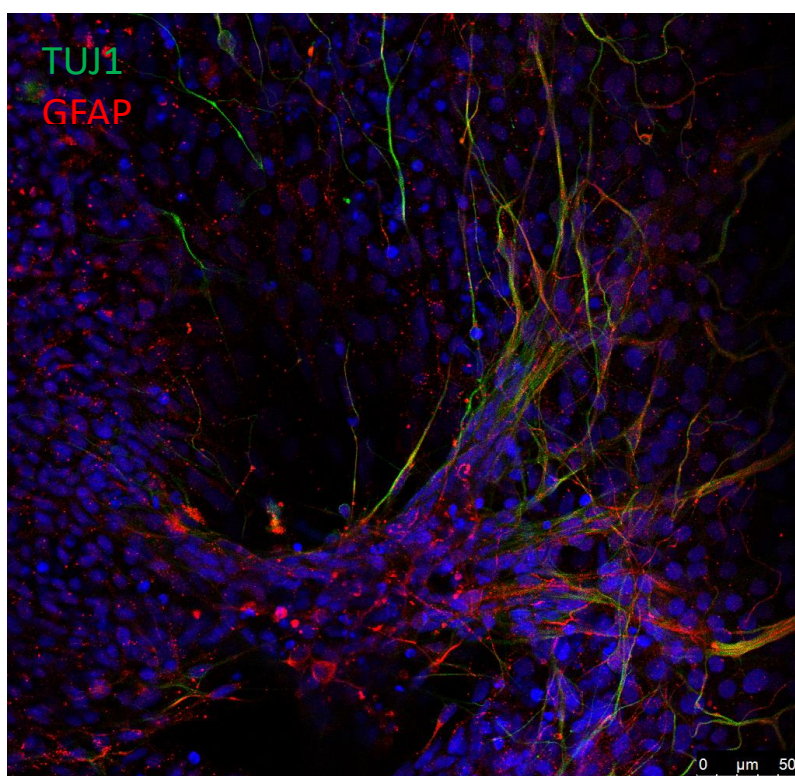


Anexo 2

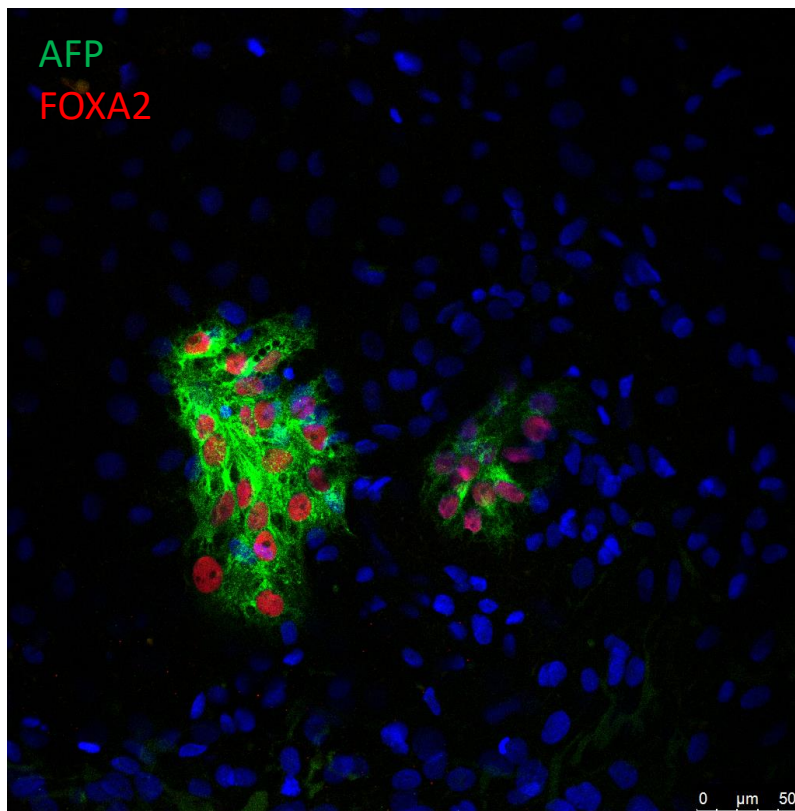
Diferenciación *in vitro*



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: 21320777

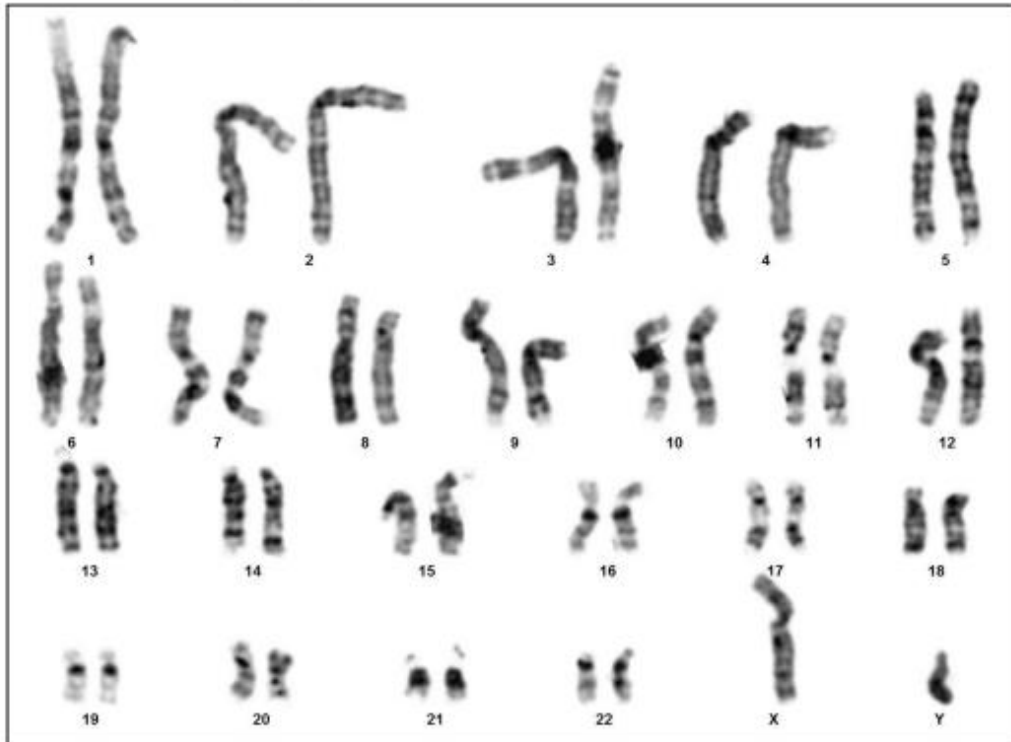
Department: IDIBELL

NHC: CT0425

Sample: CM

Name: GNB FIPS1-Ep6F-1 p13

Date: 5/20/2022



Case: 21320777 Slide: 1 Cell: 4

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
GNB1 FiPS1-Ep6F-1 p13	8; 9.3	30	10; 11	8; 11	11	11; 13	10; 11	X; Y	18	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.

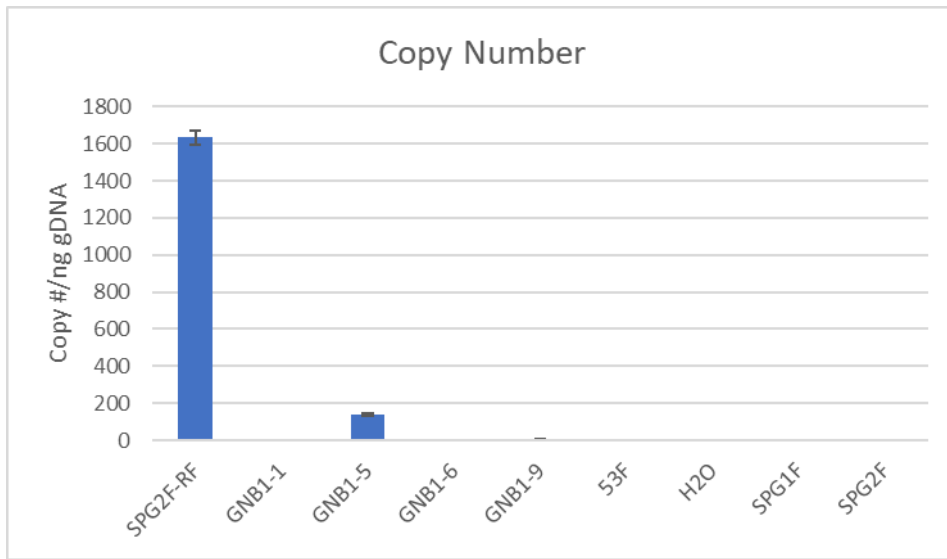
Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
Fb GNB1, P3, 31.05.21	8; 9.3	30	10; 11	8; 11	11	11; 13	10; 11	X; Y	18	8

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

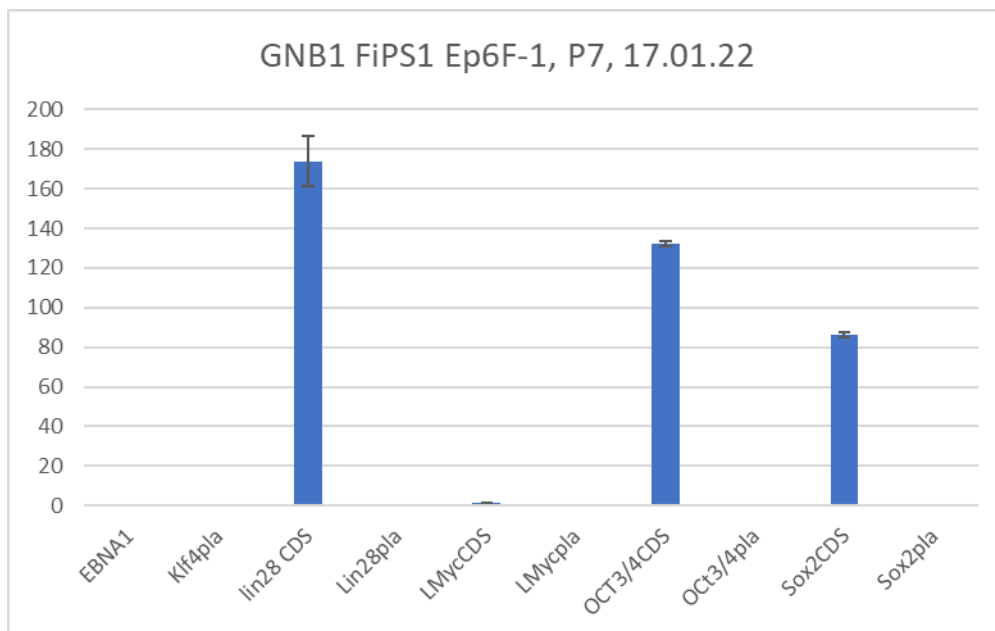


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC (GNB1-1 corresponde a la abreviación de **GNB1 FiPS1-Ep6F-1**) y en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG1F y 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 **GNB1 FiPS1-Ep6F-1**



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 29/04/2022



15. GNB1 FiPS1-Ep6F-1 p9