



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **GNB1 FiPS2-Ep6F-6** 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

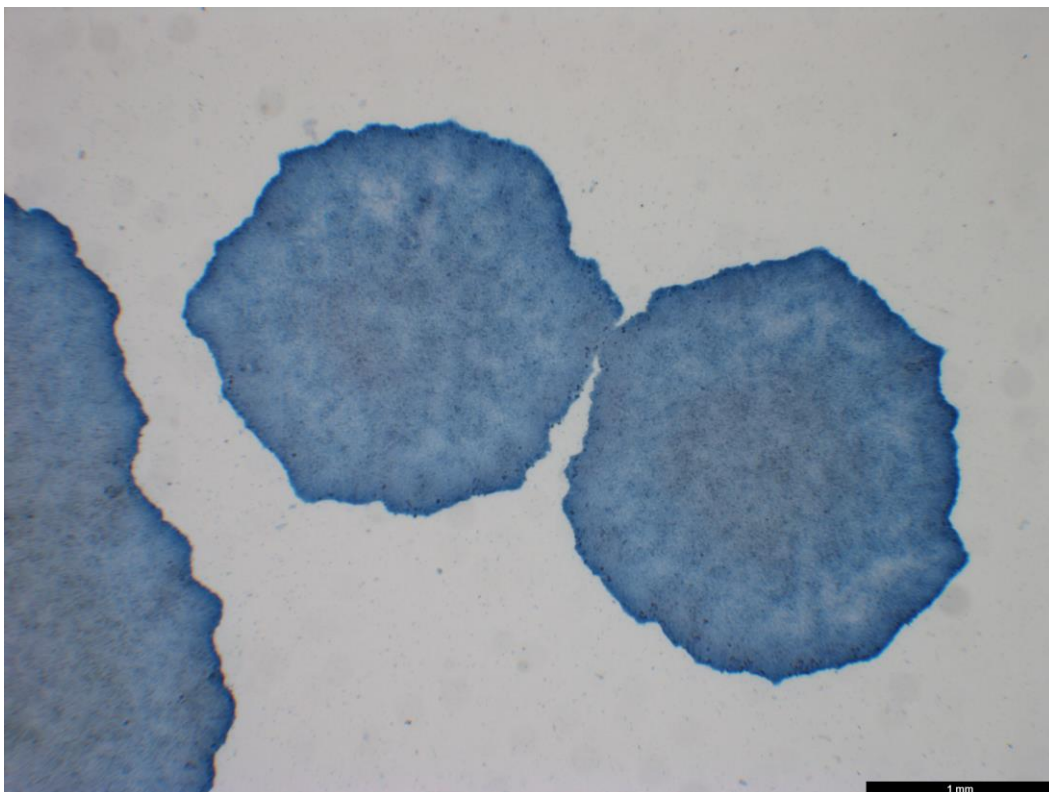
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

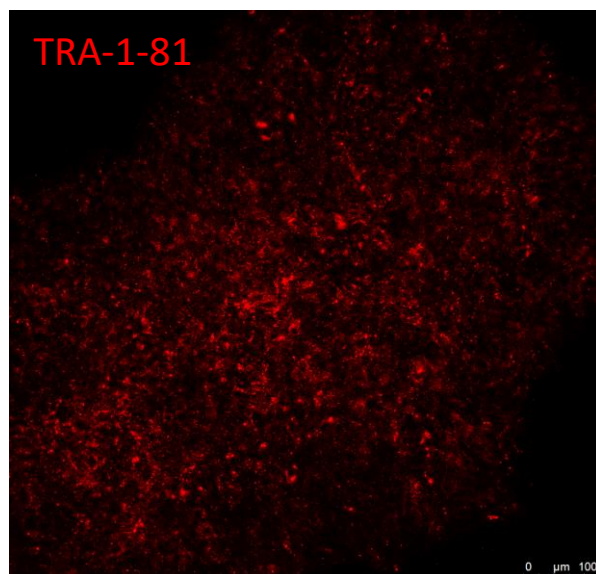
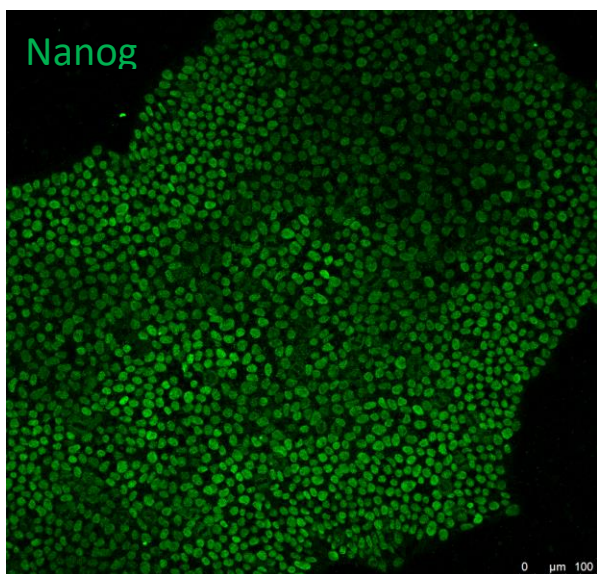


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

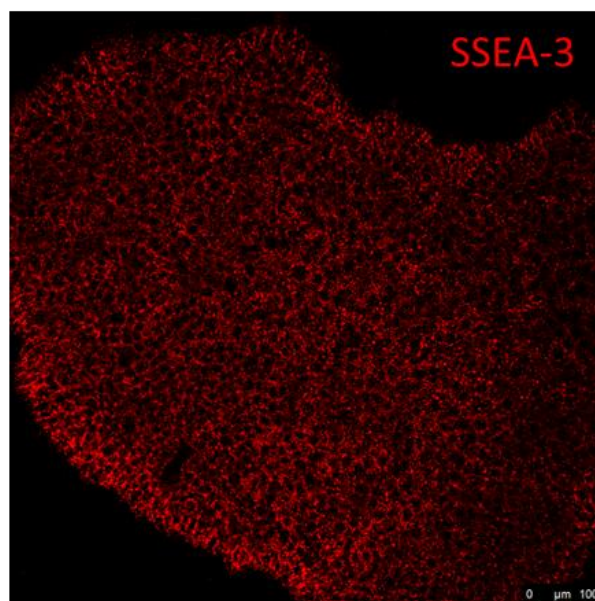
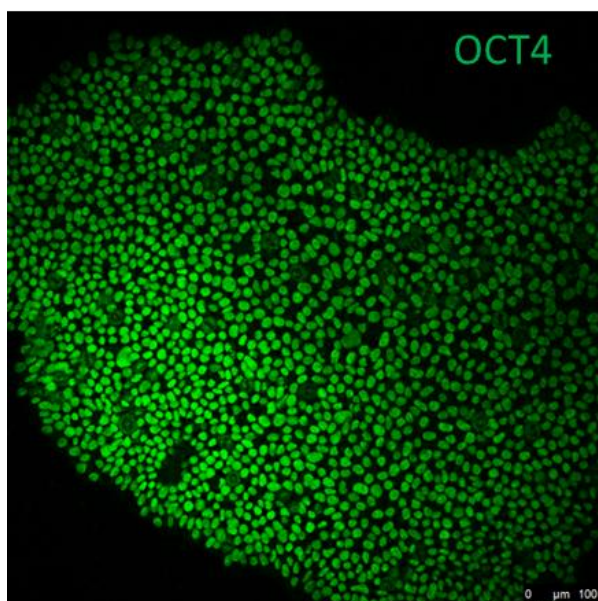


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



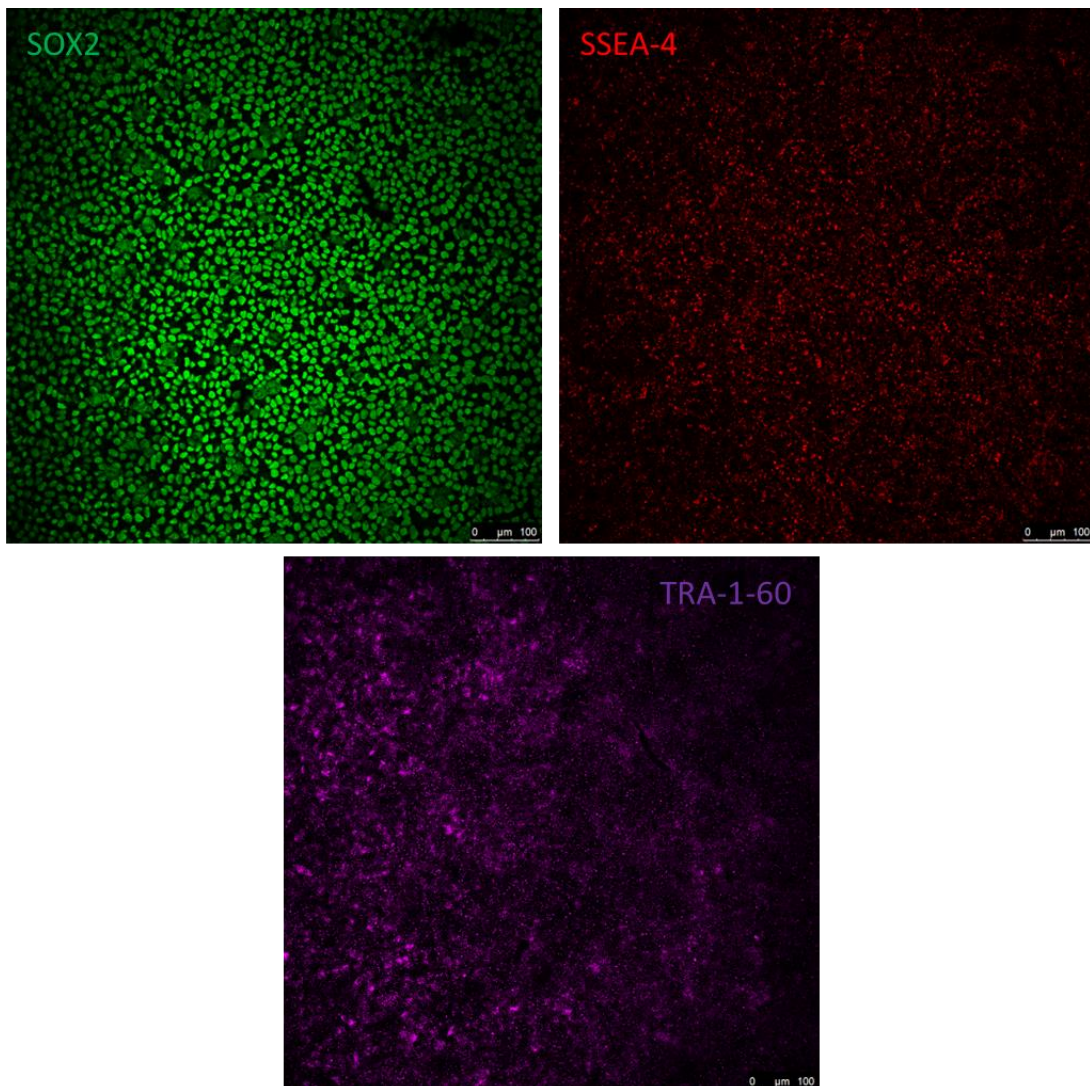
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



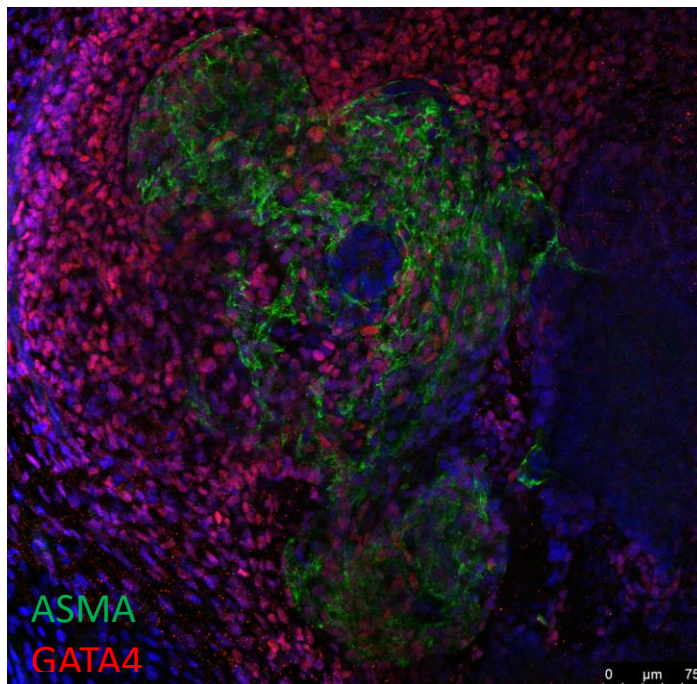
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

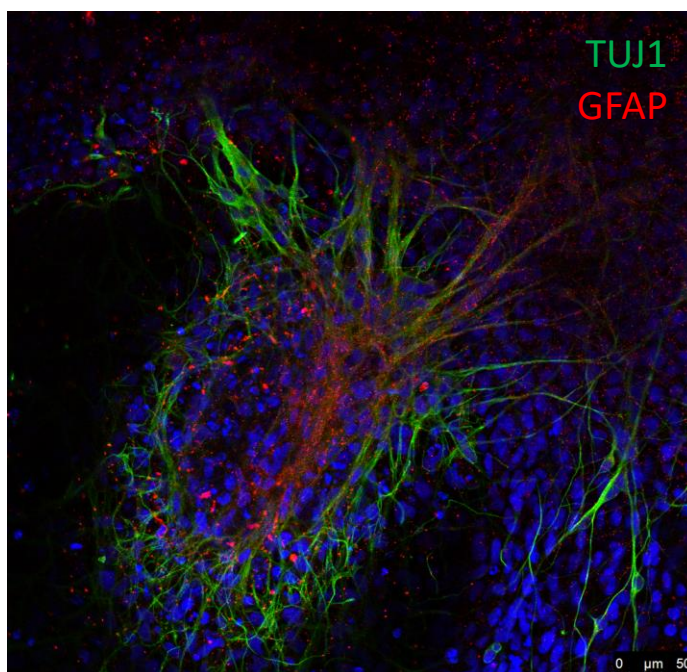


Anexo 2

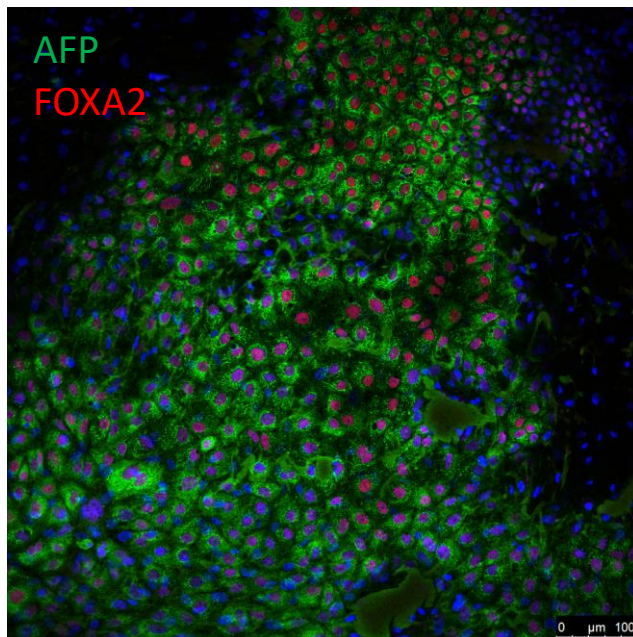
Diferenciación *in vitro*



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: 21710969

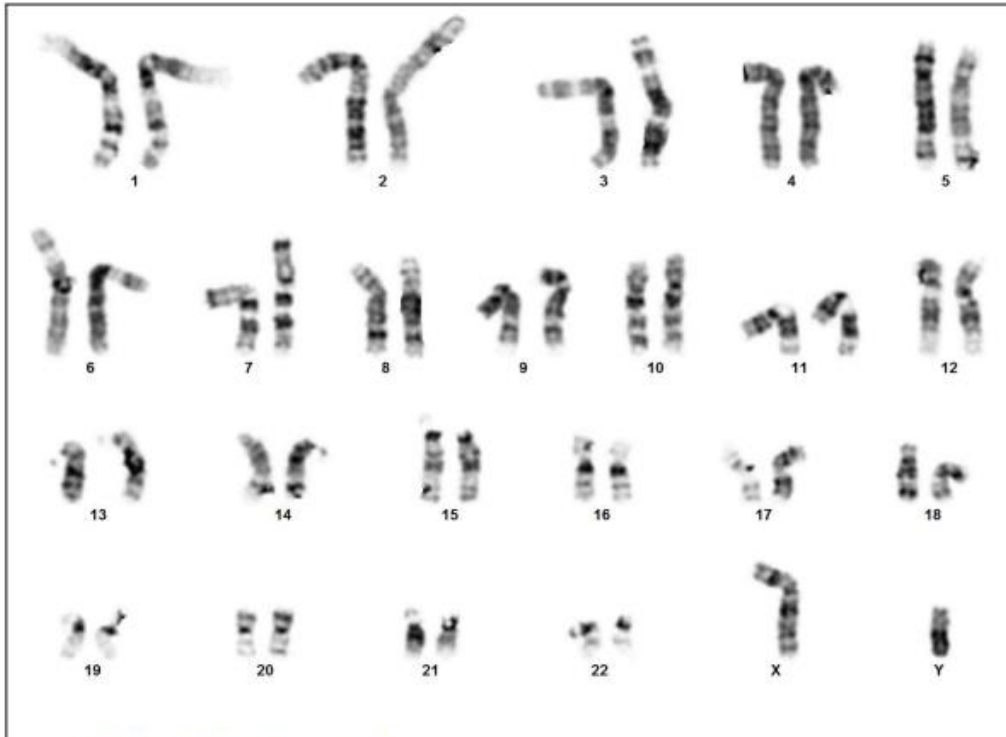
Department: IDIBELL

NHC: CT0440

Sample: CM

Name: GNB1 FIPS2-Ep6F p11

Date: 6/23/2022



Case: 21710969 Slide: 1 Cell: 4F

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	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
GNB1 FiPS2-Ep6F-6 p11	9.3	30; 32.2	10; 12	8; 12	11; 12	11; 13	10; 11	X; Y	18	8

Barcelona, a 01 de agosto de 2022

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

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 GNB2, P3, 31.05.21	9.3	30; 32.2	10; 12	8; 12	11; 12	11; 13	10; 11	X; Y	18	8

Barcelona, a 14 de julio de 2021

Laboratorio Biología Molecular

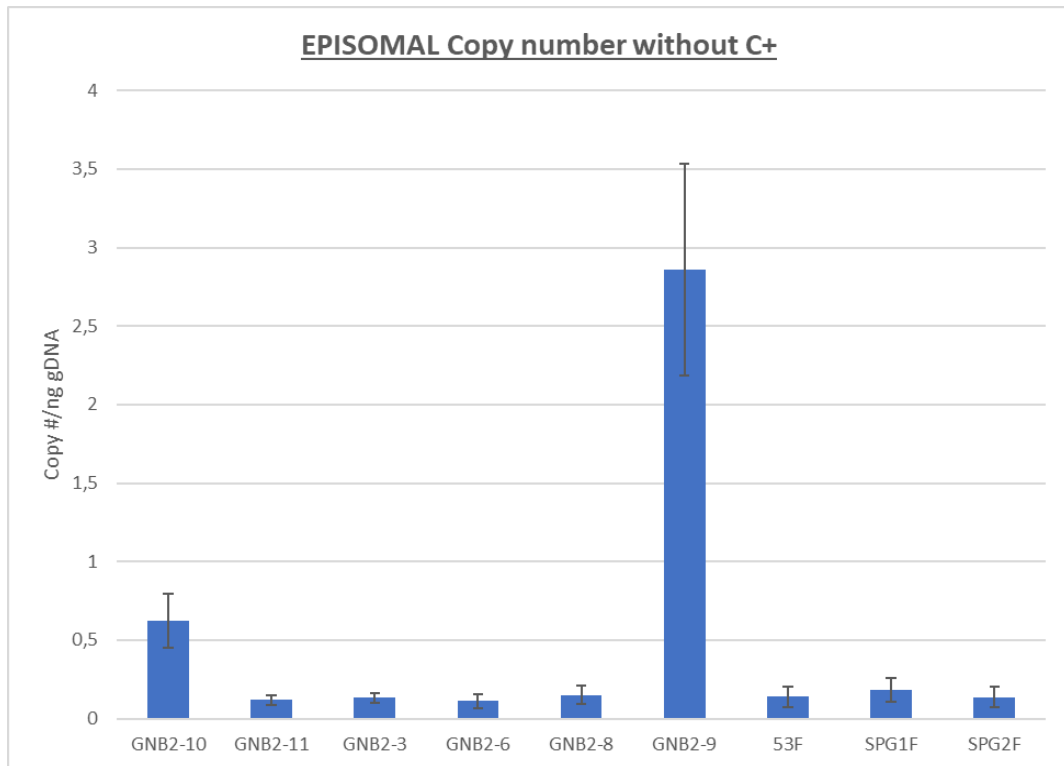
P-CMRC

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

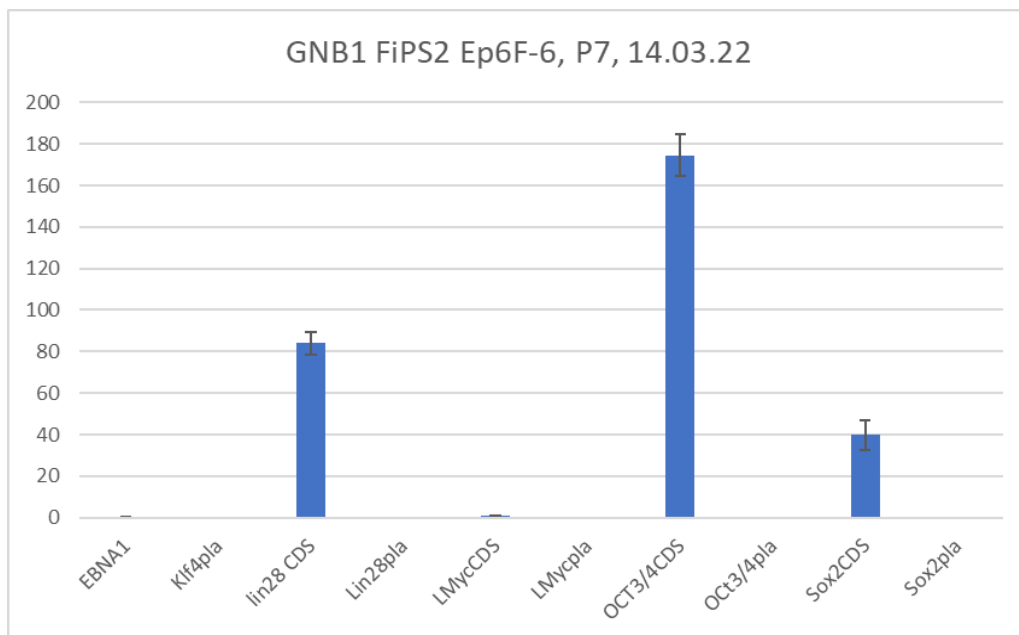


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC (GNB2-6 corresponde a la abreviación de **GNB1 FiPS2-Ep6F-6**) y en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG1F y SPG2F**)



Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **GNB1 FiPS2-Ep6F-6**



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

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



- 15. GNB1 FiPS1-Ep6F-1 p9
- 16. GNB1 FiPS2-Ep6F-6 p7
- 17. GNB1 FiPS2-Ep6F-8 p7