



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR **GNB1 FiPS4-Ep6F-12** 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

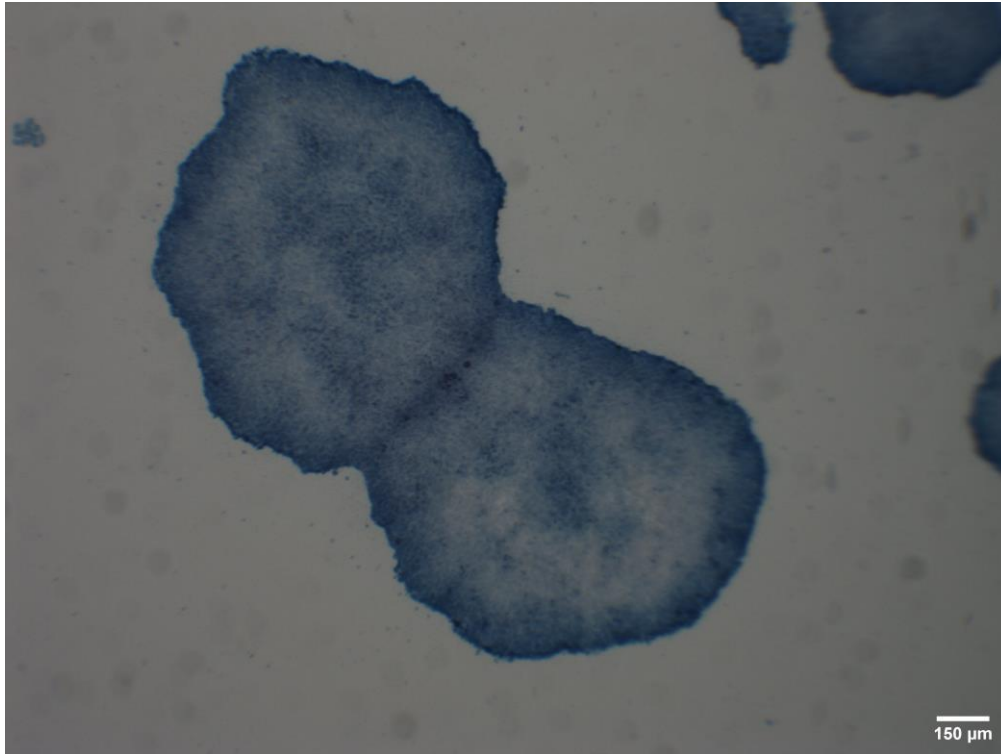
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

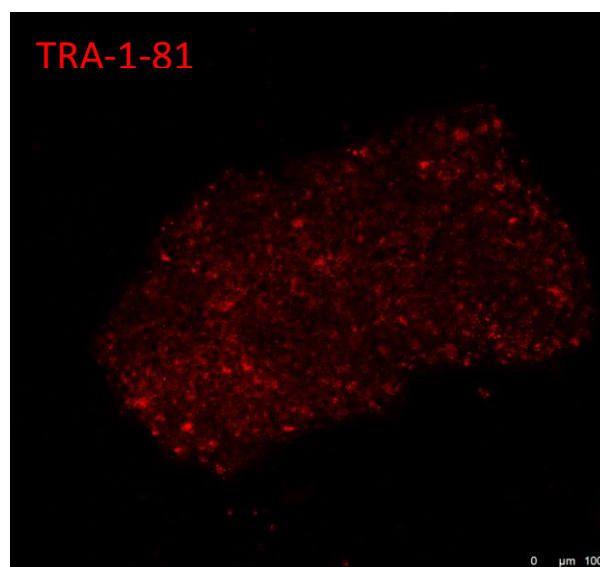
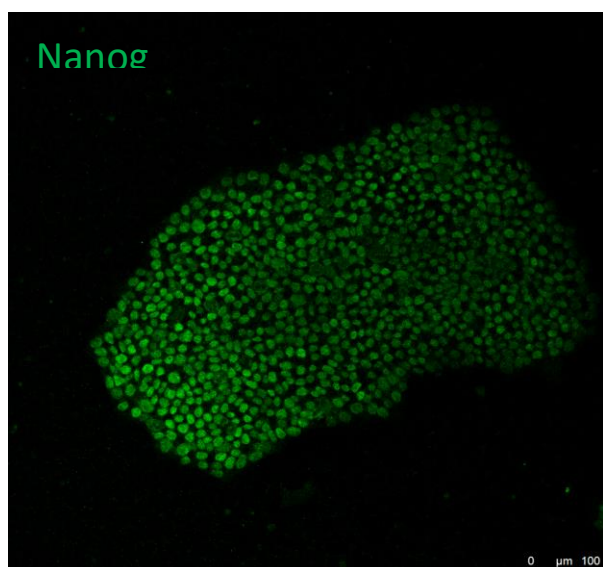


## **Anexo 1**

### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**

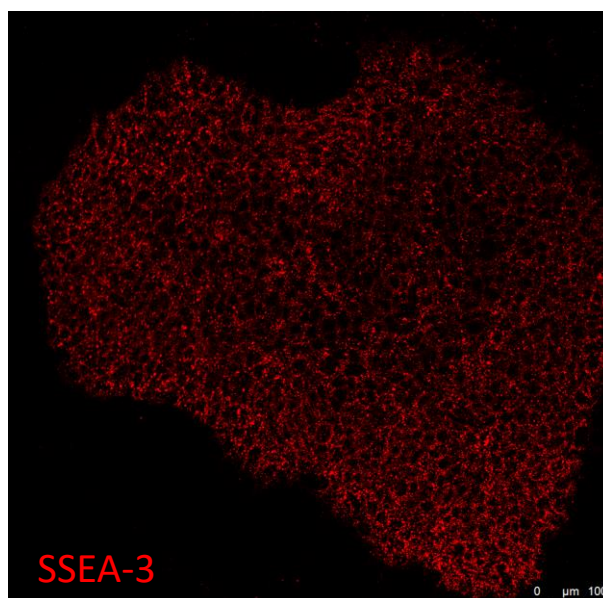
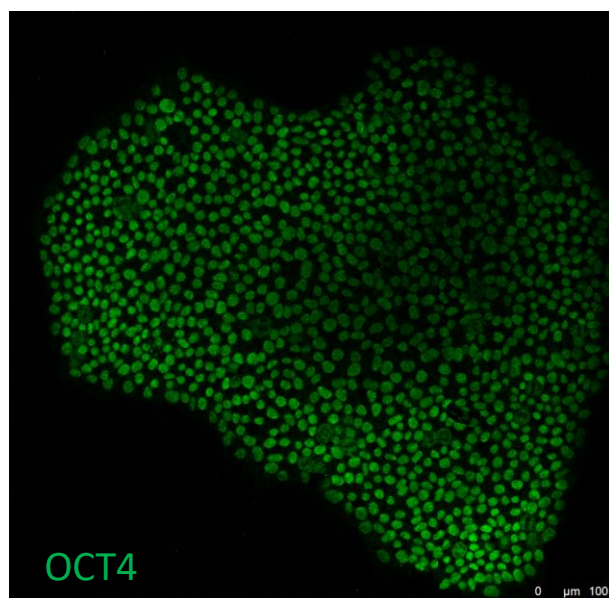


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



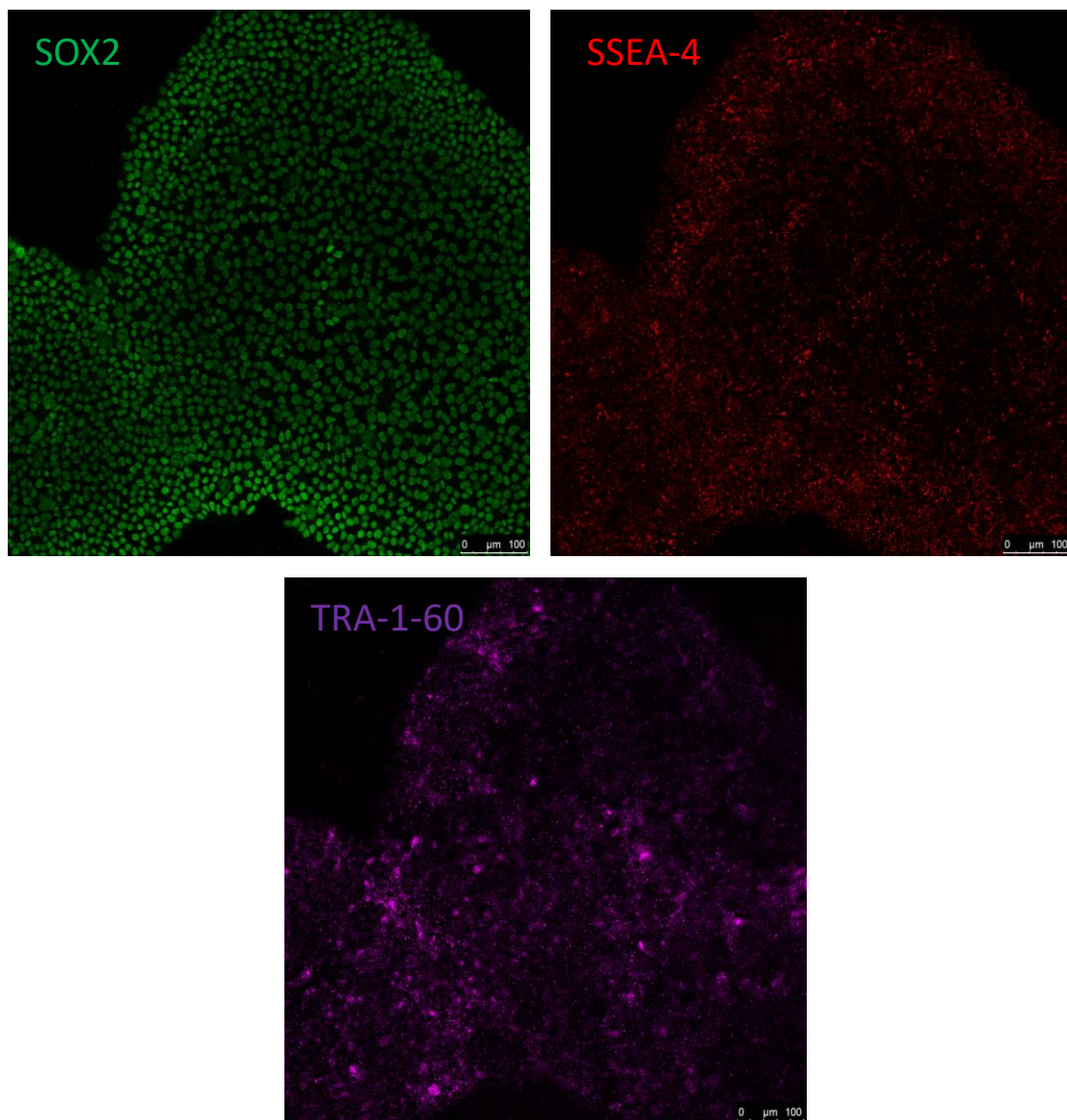
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**



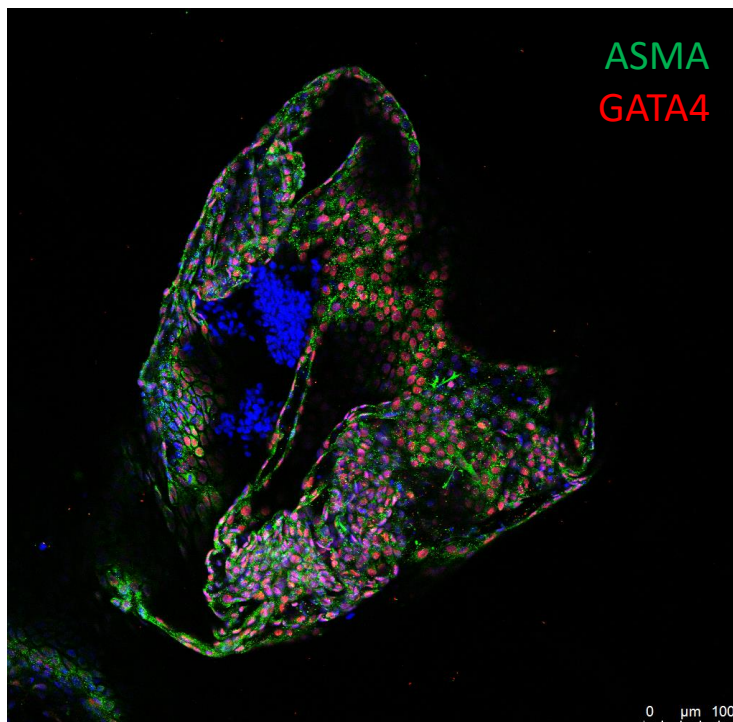
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

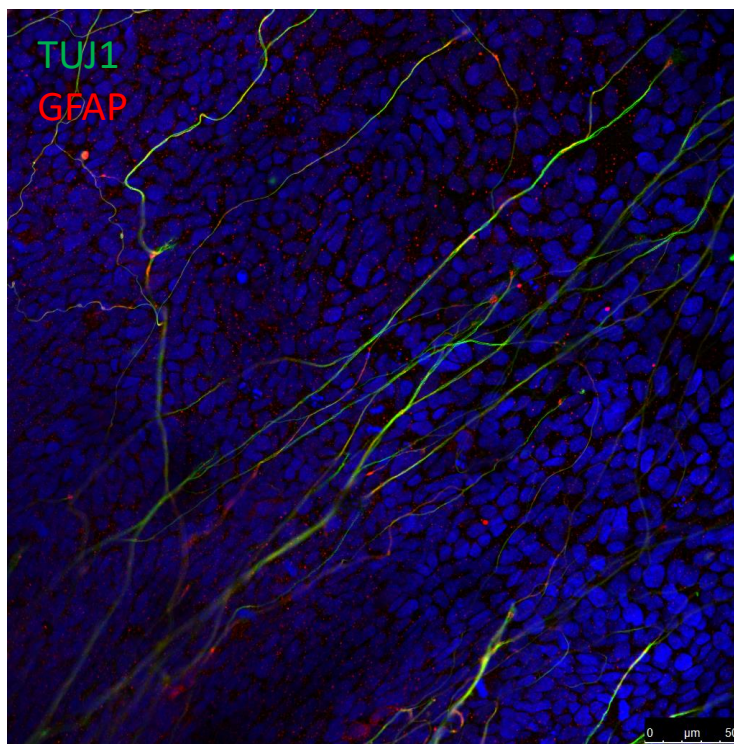


## **Anexo 2**

### **Diferenciación *in vitro***

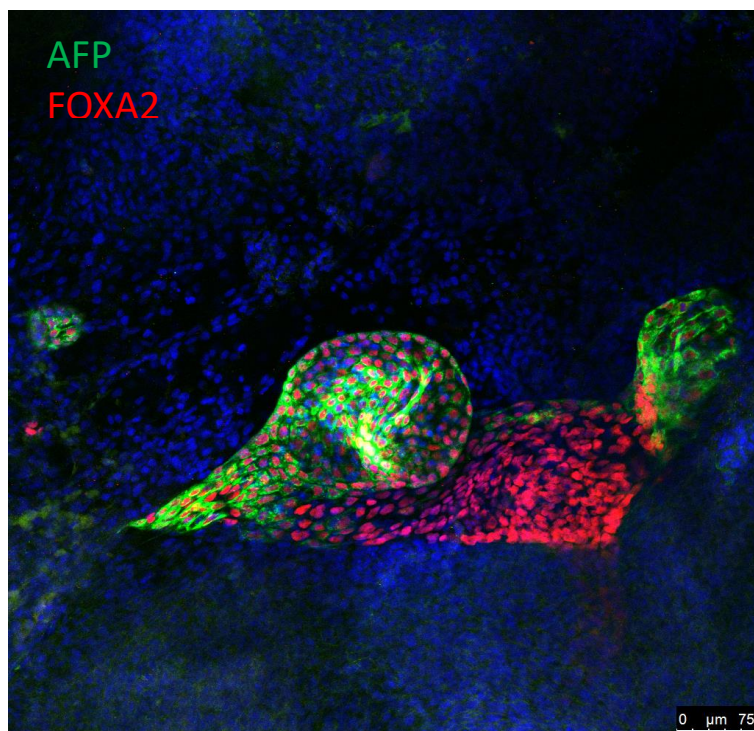


Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y GATA4**



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: 22100440

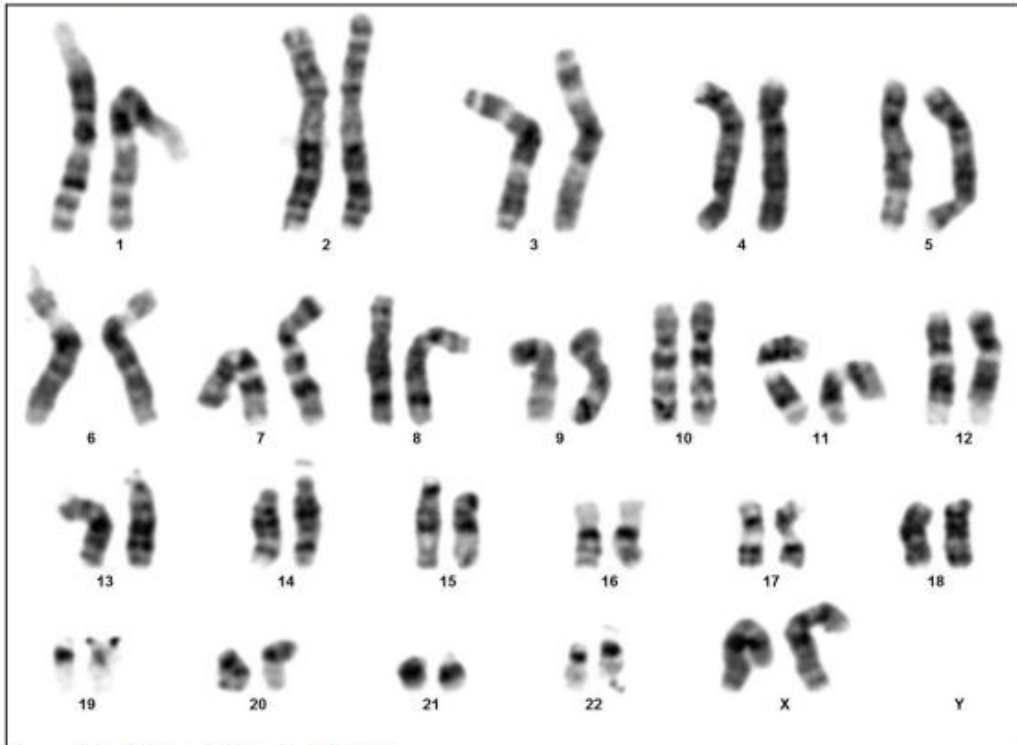
Department: IDIBELL

NHC: CT0470

Sample: CM

Name: GNB1 FB4-EPGF-12 P13

Date: 8/5/2022



Case: 22100440 Slide: 2 Cell: 5

Result: 46,XX



## **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 FiPS4-Ep6F-12 p11	6; 8	28	11; 13	11	10; 12	12	10; 11	X	16; 17	11

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 GNB4, P3, 06.07.21	6; 8	28	11; 13	11	10; 12	12	10; 11	X	16; 17	11

Barcelona, a 14 de julio de 2021

Laboratorio Biología Molecular

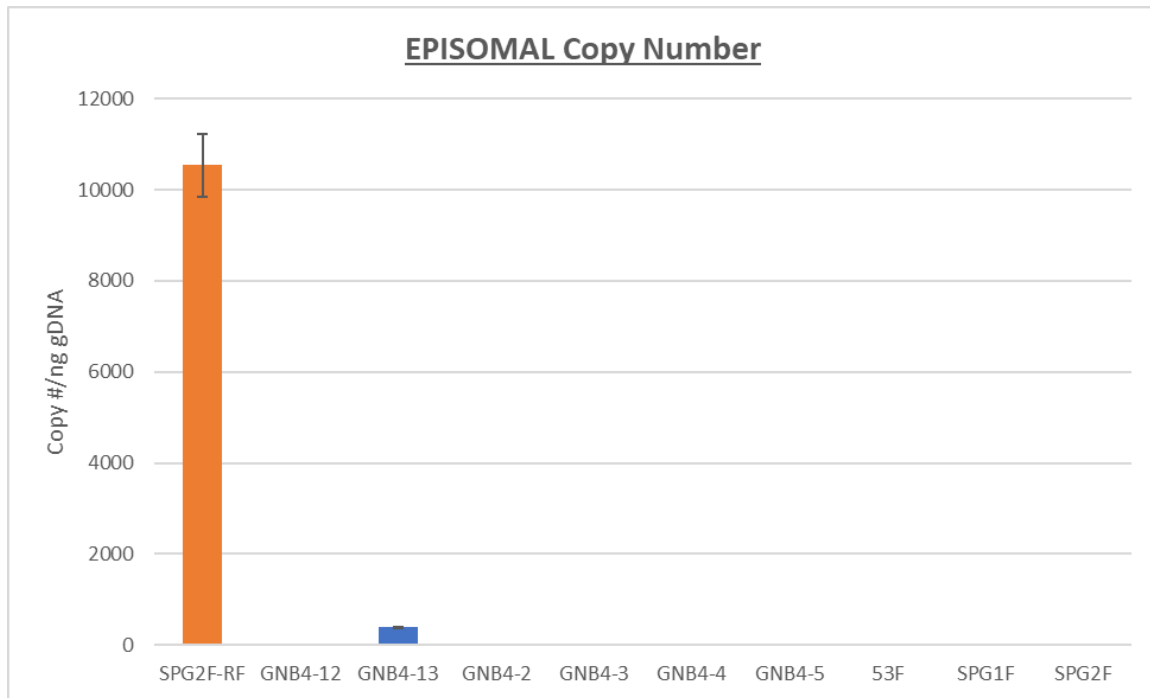
P-CMRC

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

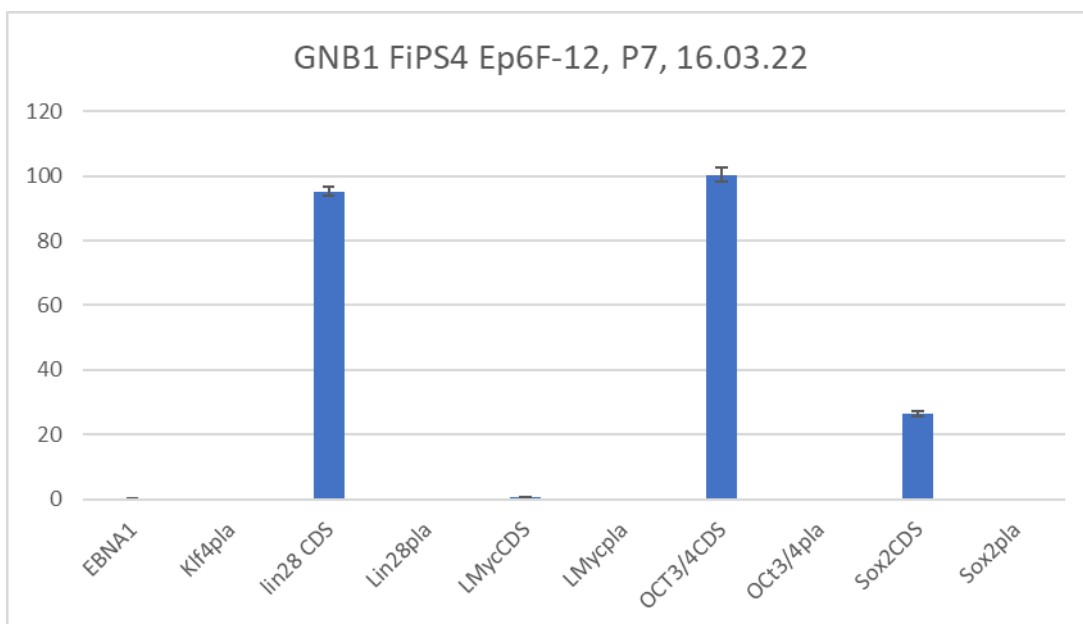


## **Anexo 5**

### **Ausencia de los transgenes de reprogramación**



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC (GNB4-12 corresponde a la abreviación de **GNB1 FiPS4-Ep6F-12**) 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 FiPS4-Ep6F-12**

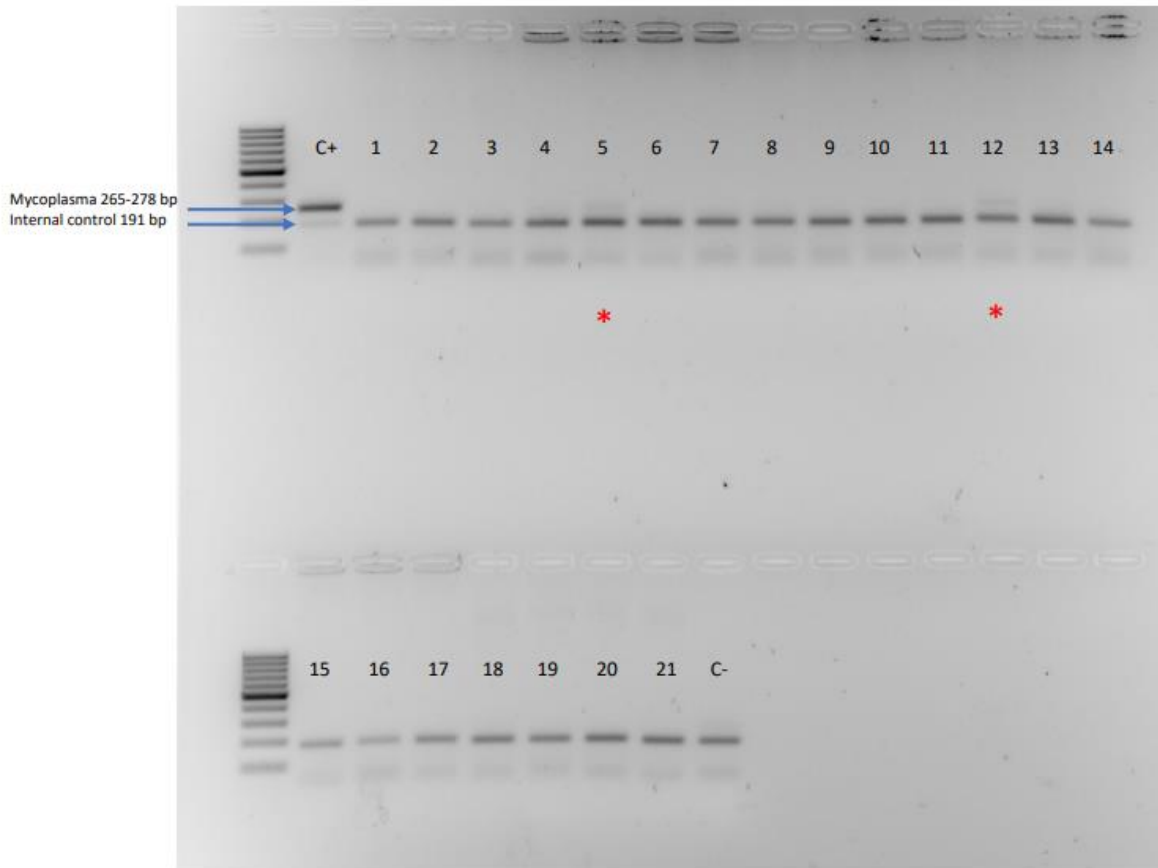


## **Anexo 6**

### **Resultado test de micoplasma**



## Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 11/07/2022



4. BA4: GNB1 FiPS4-Ep6F-12 p9