

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR [PD]FiPS022-V4F-15 EN EL
BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES.

ANEXOS

Anexo 1: Informe independiente del análisis microbiológico
[PD]FiPS022-V4F-15

Anexo 2: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia [PD]FiPS022-V4F-15

Anexo 3: Cariotipo [PD]FiPS022-V4F-15

Anexo 4: Diferenciación *in vitro* [PD]FiPS022-V4F-15

Anexo 5: Diferenciación *in vivo* [PD]FiPS022-V4F-15

Anexo 6: Genotipación de la línea [PD]FiPS022-V4F-15

Anexo 1

Informe independiente del análisis microbiológico

[PD]FiPS022-V4F-15

Peticció : 88929
NO INDUSTRIA
MUTUA

H: //GL59184298

C. MEDICINA REGENERATIVA DE BA
D.N.I. :
Edat : T.F.: Global
Data extracció : 06-11-12

[PD] FiPS022 V4F-15, p15

[PD] FiPS022 V4F-15 p15

MYCOPLASMES/UREAPLASMES UROGENITALS : CULTIU EN MOSTRA

Mostra : MOSTRA

RESULTAT No s'observa creixement

CULTIU

Tècnica : Cultiu en medis de enriquiment i selectius.

MOSTRA : MOSTRA

RESULTAT No s'observa creixement

CULTIU MICOLÒGIC

MEDI D'AÏLLAMENT I CULTIU : Agar Sabouraud amb Gentamicina i Cloranfenicol.

MOSTRA : MOSTRA

RESULTAT No s'observa creixement

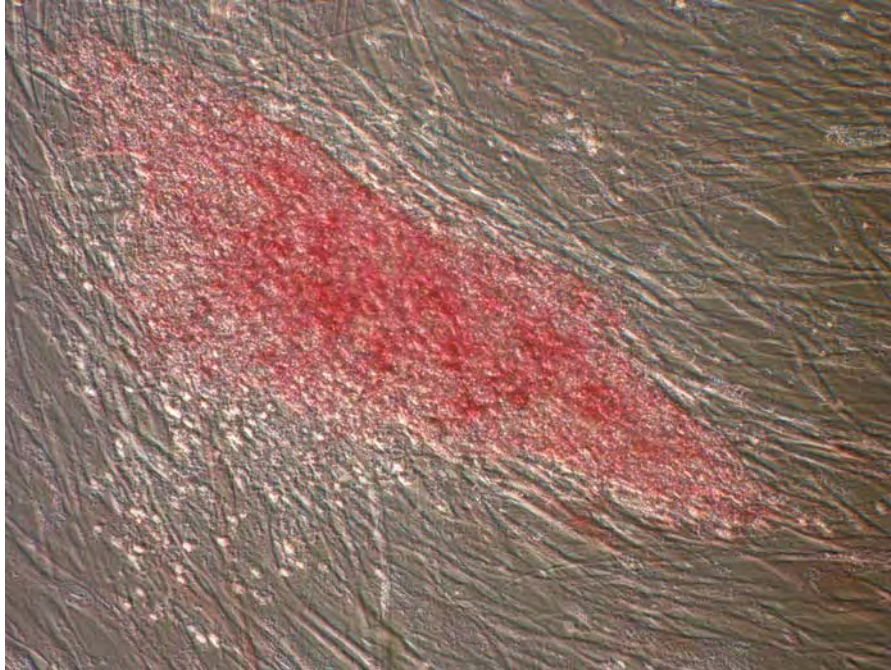
Responsables de Validació : AUTO, NMB.

Director : Dr. J.I. HORNOS I VILA

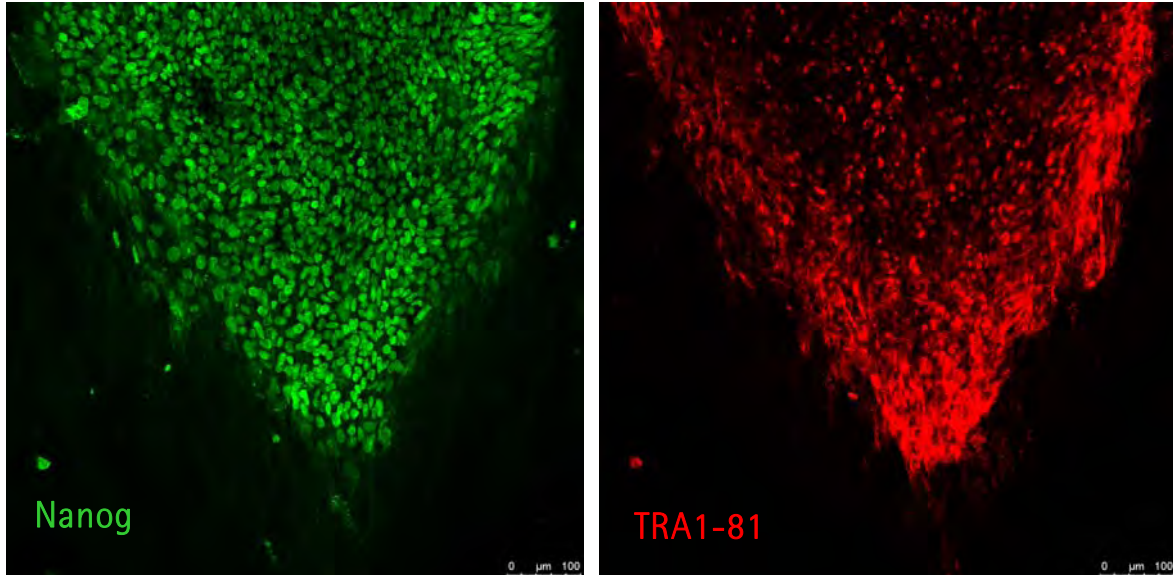
Barcelona, 28 de novembre de 2012

Anexo 2

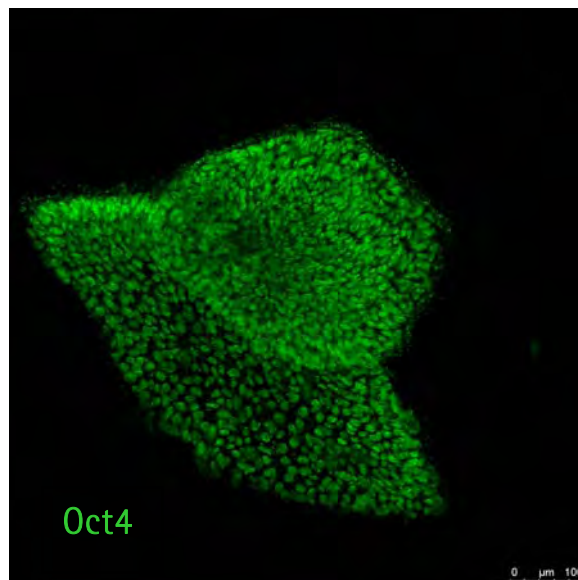
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia [PD]FiPS022-V4F-15



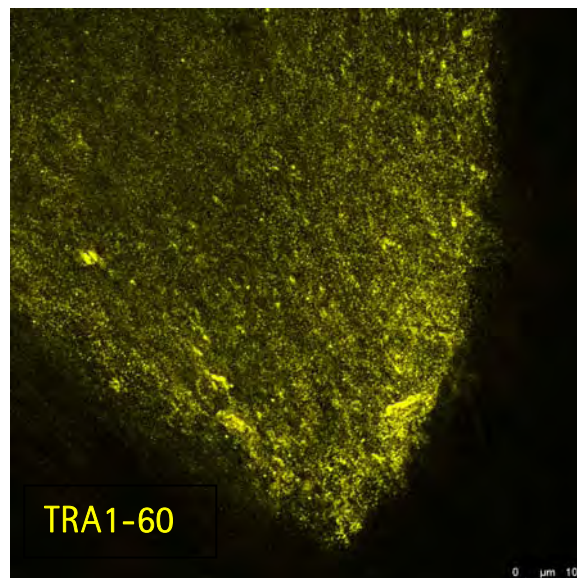
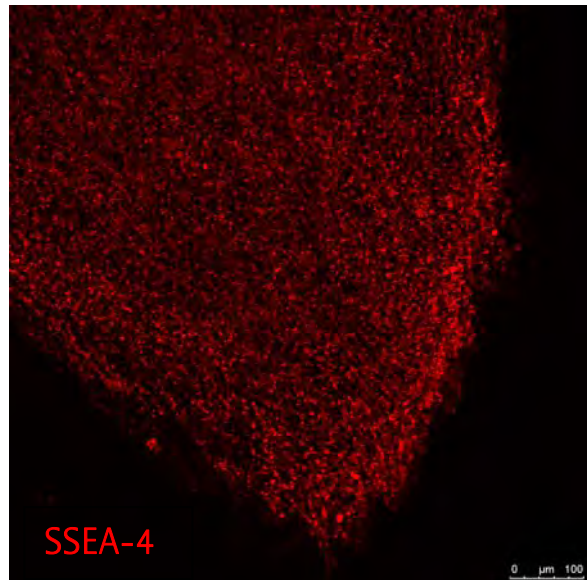
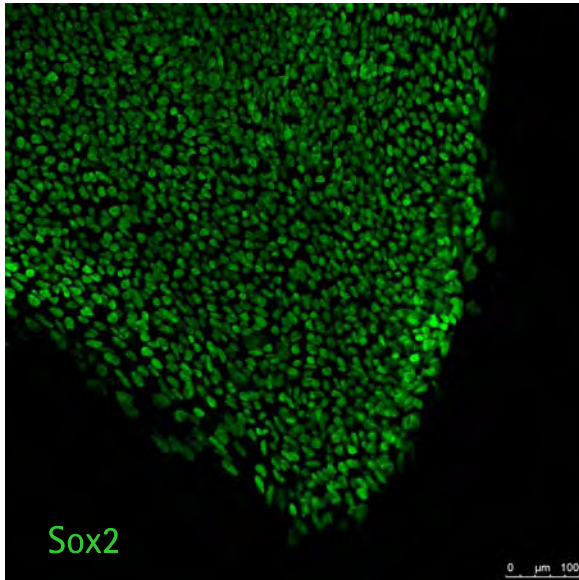
Actividad fosfatasa alcalina de la línea de células pluripotentes [PD]FiPS022-V4F-15



Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [PD]FiPS022-V4F-15 para Nanog y TRA1-81



Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [PD]FiPS022-V4F-15 para Oct-4



Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [PD]FiPS022-V4F-15 para Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 3
Cariotipo [PD]FiPS022-V4F-15

Nombre muestra: [PD]FiPS022-V4F-15

Fecha: Barcelona, 14/04/2013

ESTUDIO CITOGENÉTICO

El resultado obtenido en el estudio citogenético realizado en la muestra [PD]FiPS022-V4F-15 es:

-Resultado citogenético: 46, XY, t(6;12)

Se han estudiado un total de **20 metafases** procedentes de cultivos celulares de la muestra.

Comentario:

En el estudio citogenético realizado mediante la técnica de bandas G con 150bjh se ha observado una translocación balanceada entre los cromosomas 6 y 12, observándose en el 100% de las metafases analizadas.

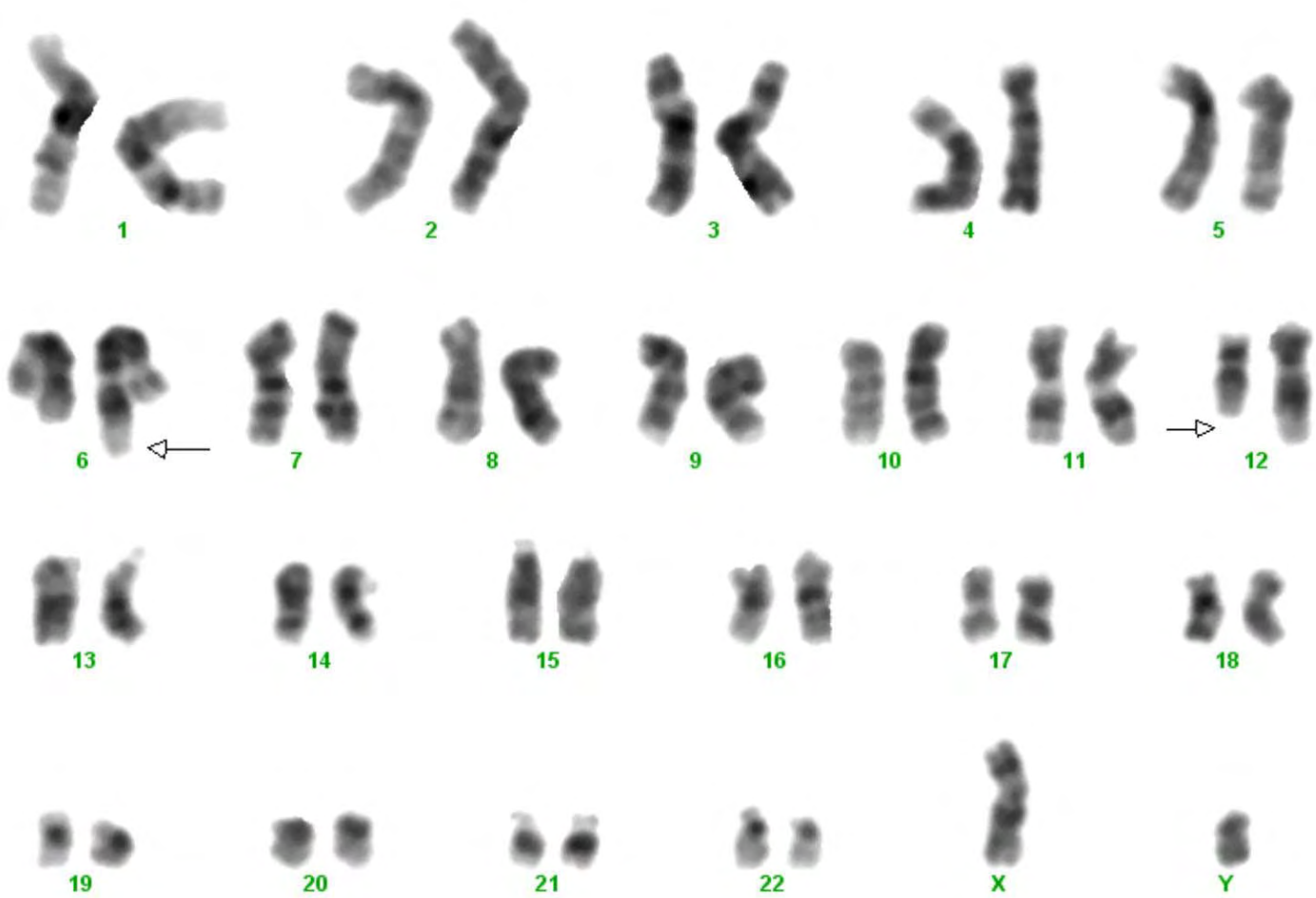
Observaciones:

El resultado citogenético no excluye la presencia de anomalías no detectables debido a limitaciones propias de la técnica, como pueden ser: mosaicos de baja frecuencia y alteraciones estructurales de medida pequeña (microdeleciones y microduplicaciones).

Los estudios citogenéticos tienen una fiabilidad superior al 99%.

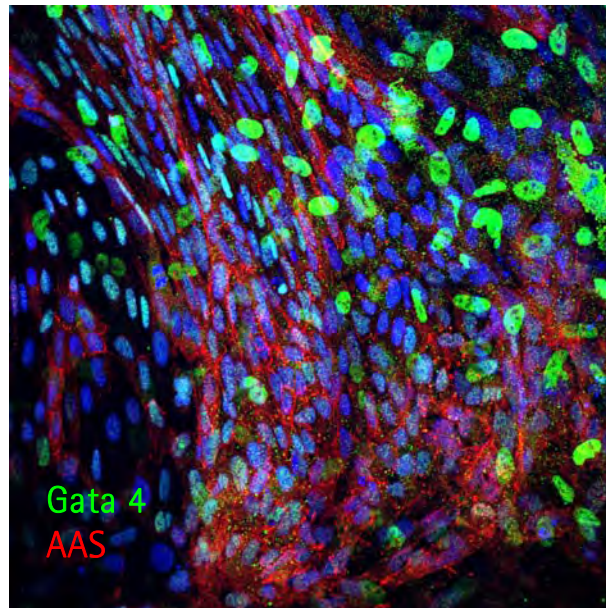


Dra. Cristina Gómez Santos

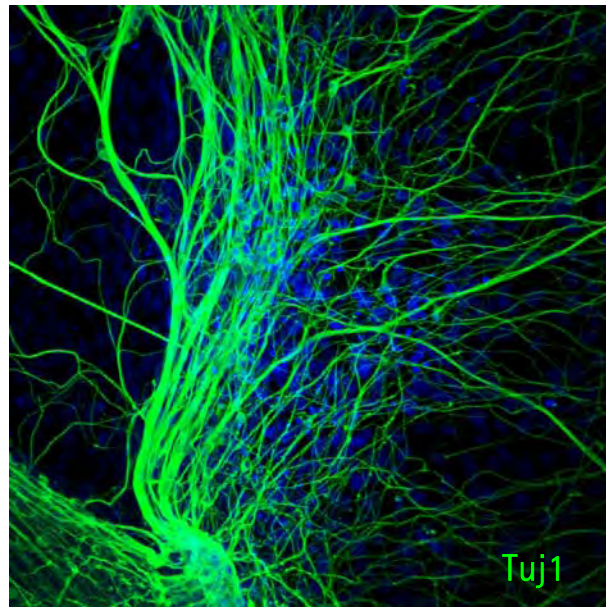


Anexo 4

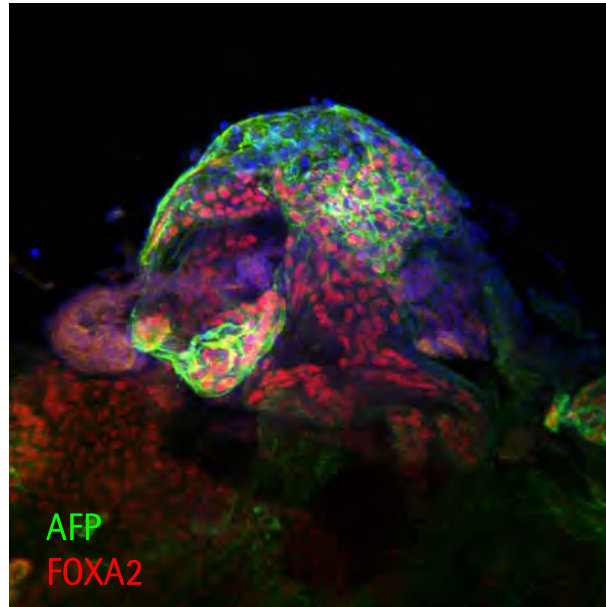
Diferenciación *in vitro* [PD]FiPS022-V4F-15



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para Gata4 y AAS



Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para Tuj1



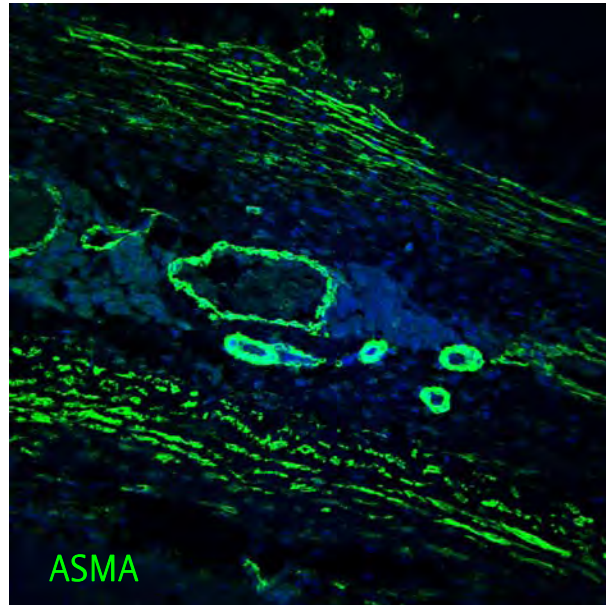
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para AFP y FOXA2



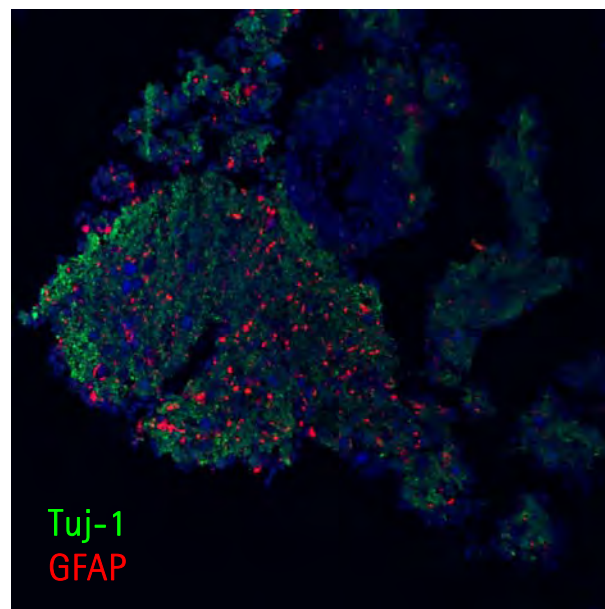
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Anexo 5

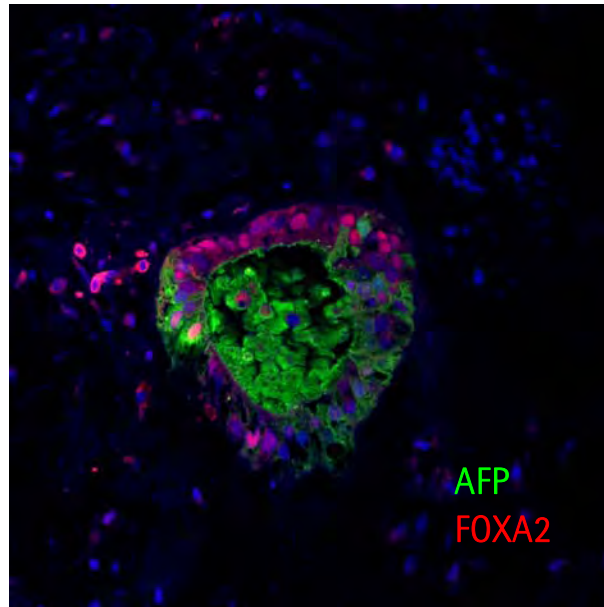
Diferenciación *in vivo* [PD]FiPS022-V4F-15



Diferenciación *in vivo* a mesodermo: Células positivas para ASMA.



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para TUJ1 y GFAP.



Diferenciación *in vivo* a endodermo: Células positivas para **AFP** y FOXA2

Anexo 6

Genotipación de la línea [PD]FiPS022-V4F-15

GENOTYPING PD-FiPS022

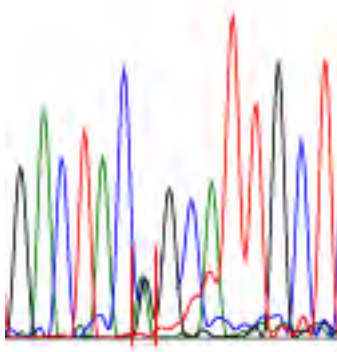
LINE	DIAGNOSE	GENE	MUTATION	MUTATION CONFIRMATION-CMRB
FiPS022 V4F#15	Parkinson Disease	LRRK2	G2019S heterozygote	G2019S heterozygote

SEQUENCING RESULT:

Sequence of PCR product on exon 41 of LRRK2

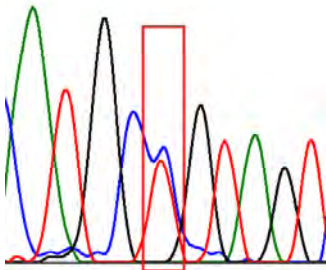
Forward primer

AGGTCTGAAACCCACAATGTGCTGCTTTTCCACTGTATCCCAATGCTGCCATCATTGCAAAGATTGC
 T **GACTAC(G/A)GCATTGCT** CAGTACTGCTGTAGAATGGGGATAAAAACATCAGAGGGCACACCAGAA
 GGATCTCACGTGTTCTCTCTACCCCCTTGGTTTTCTTTGAATCCAATTGTCCTCTGATGGTTAATTTT
 CTAATATTGT



Reverse primer

ATGC(C/T)GTAGT CAGCAATCTTTGCAATGATGGCAGCATTGGGATACAGTGTGAAAAGCAGCACAT
 TGTGGGGTTTCAGGTCTCGGTATATAATCATGGCTGAGTGGAGGTA



Result:

Point mutation **is heterozygotically** observed on primary fibroblasts PD_022 (yellow mark, red square).