



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **NEDCASB FiPS319-Ep6F-7** 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

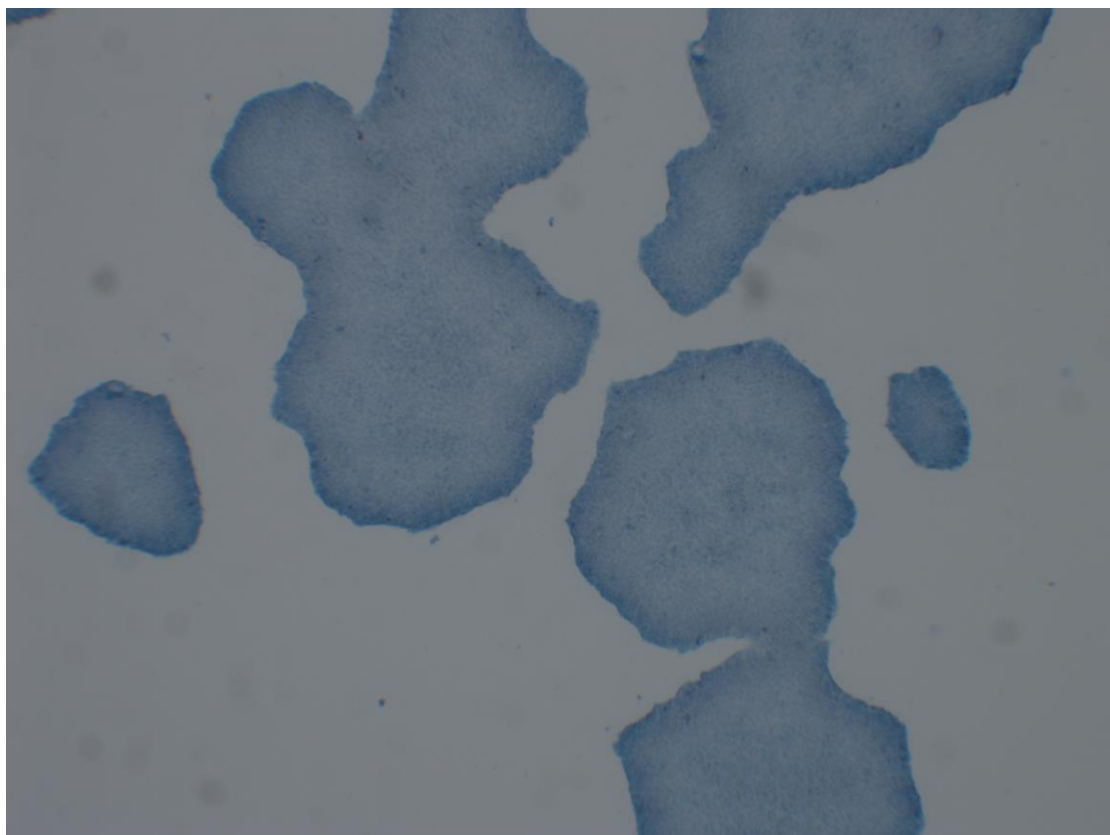
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

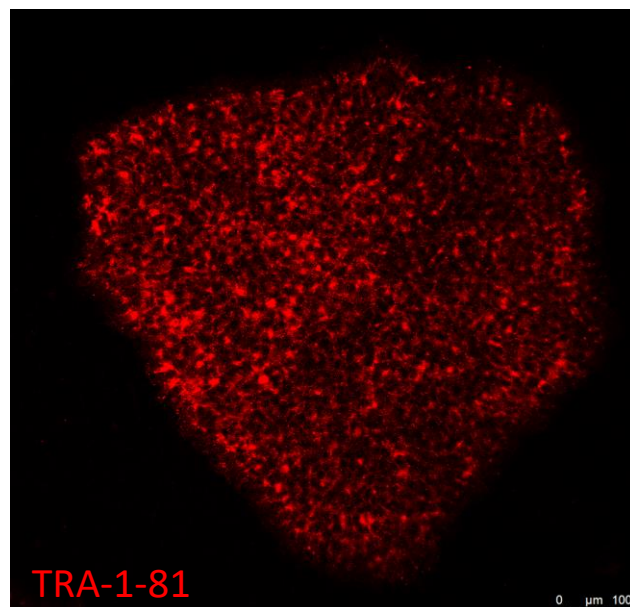
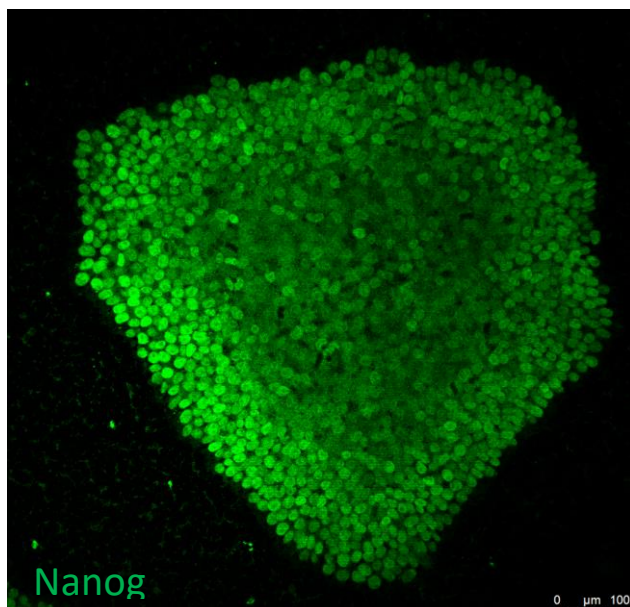


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

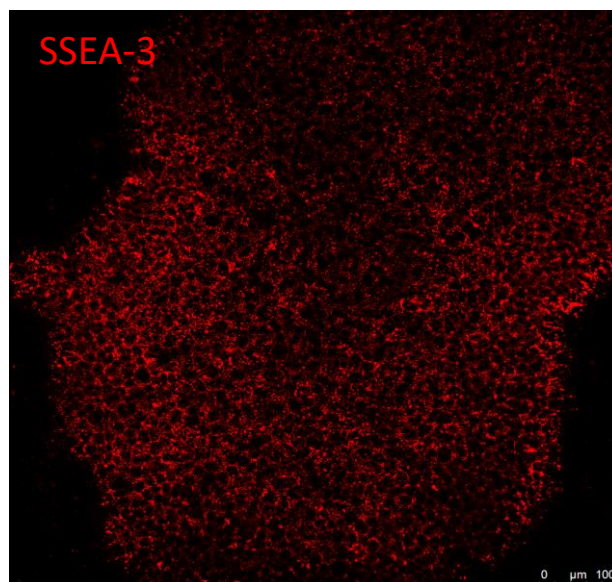
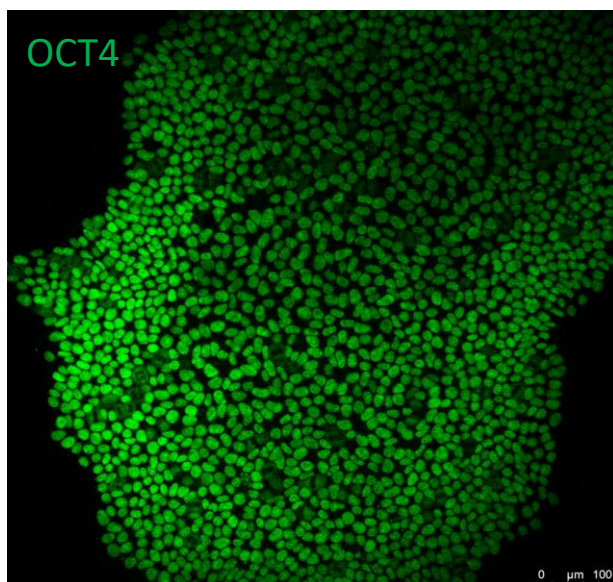


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



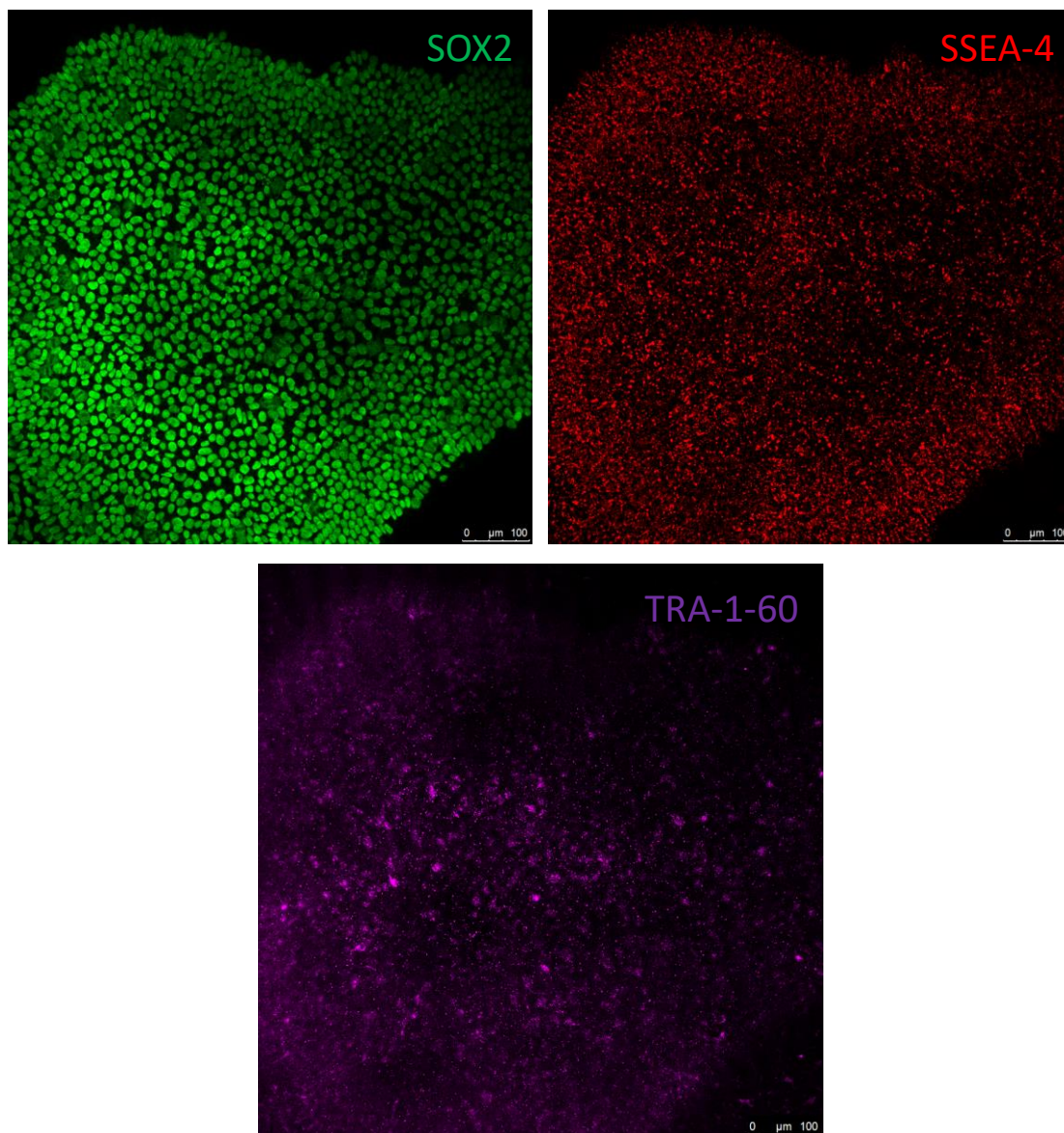
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



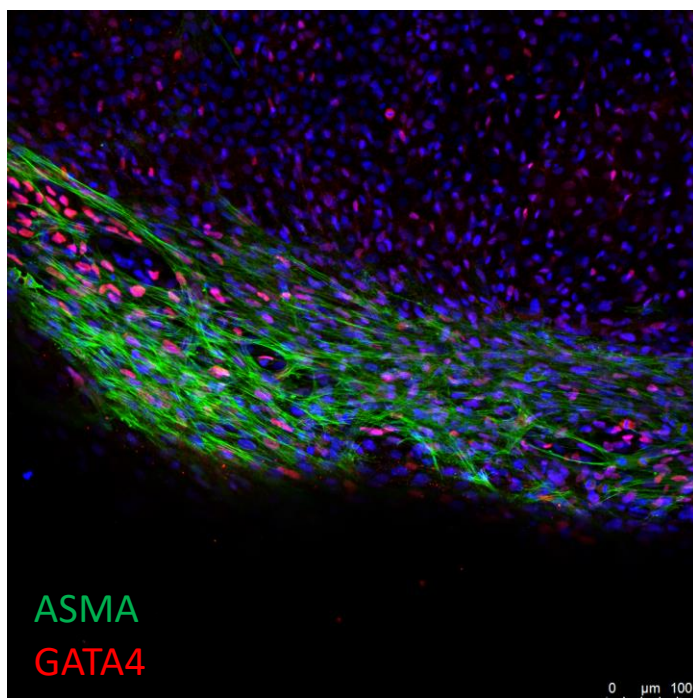
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

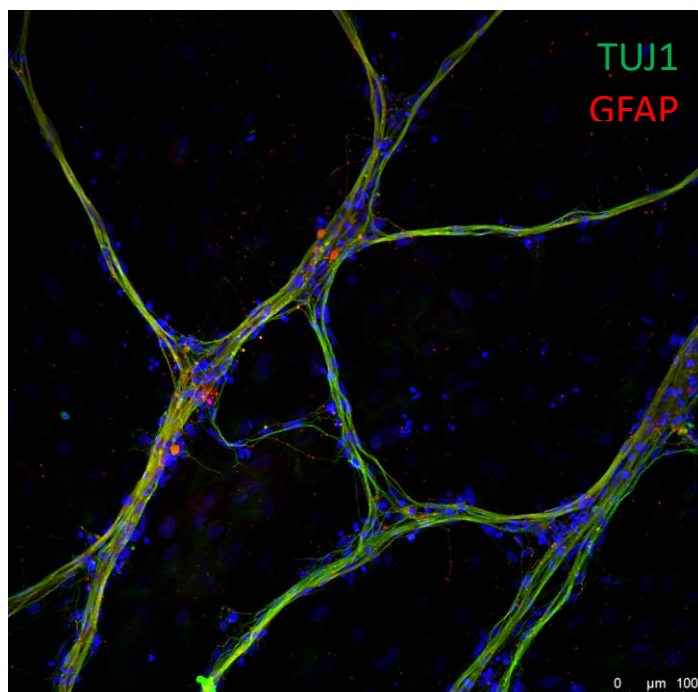


Anexo 2

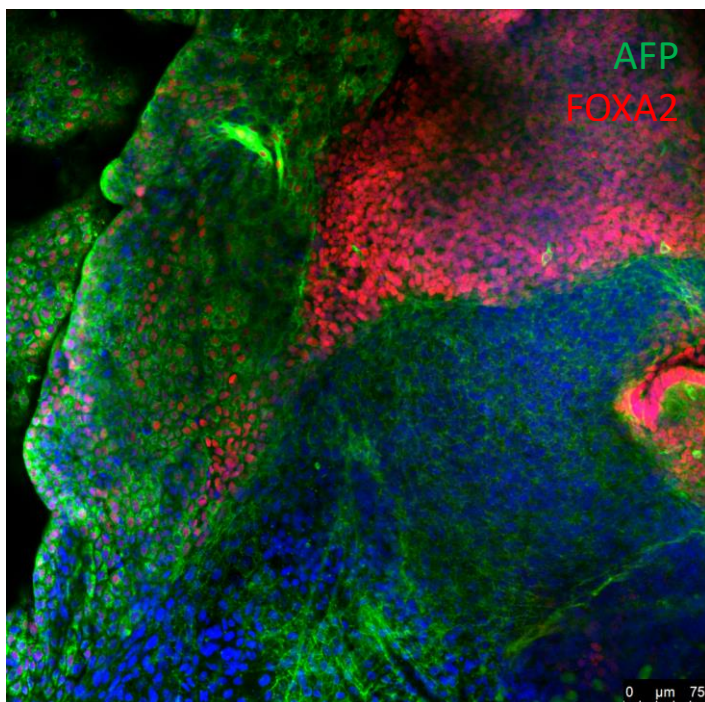
Diferenciación *in vitro*



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: 20451132

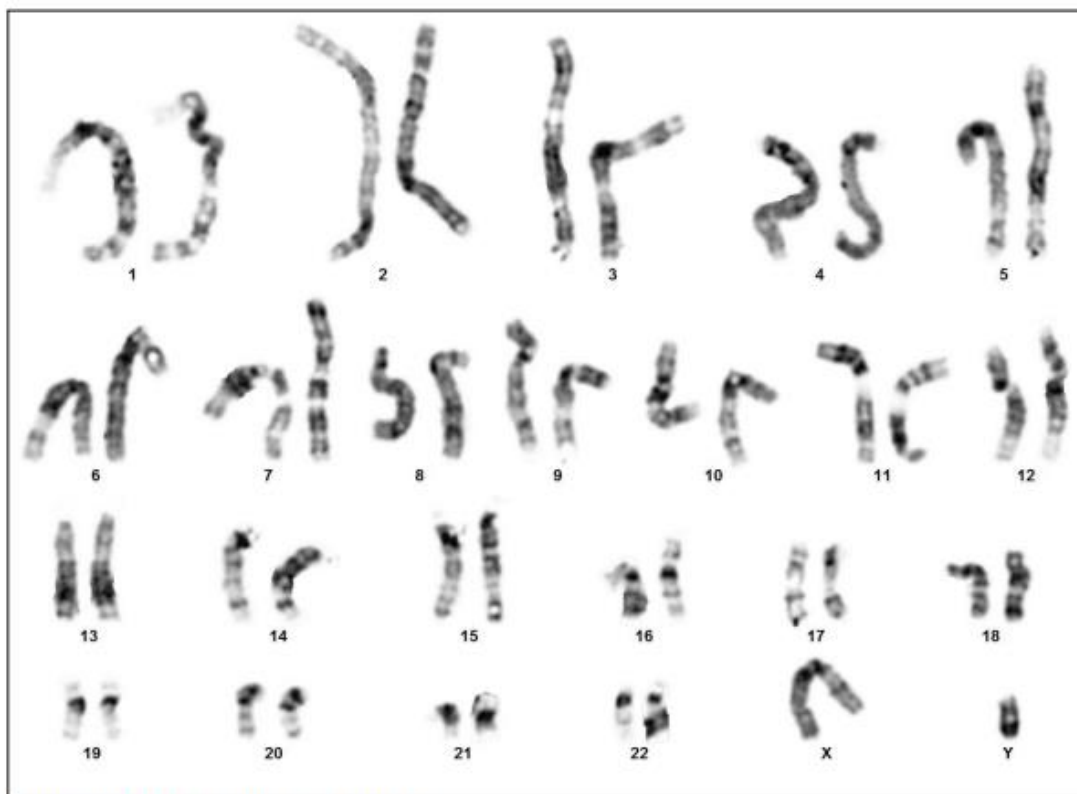
Department: IDIBELL

NHC: CT0367

Sample: CM

Name: NEDSCAB FiPS319-Ep6F-7 p13

Date: 2/17/2022



Case: 20451132 Slide: 1 Cell: 4F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

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
NEDCASB FiPS319-Ep6F-7 p12	9; 9.3	29; 30	11; 13	12; 13	8; 10	11; 12	13	X; Y	14; 17	8; 10

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 VP p9 27.09.21	9; 9.3	29; 30	11; 13	12; 13	8; 10	11; 12	13	X; Y	14; 17	8; 10

Barcelona, a 02 de noviembre de 2021

Laboratorio Biología Molecular

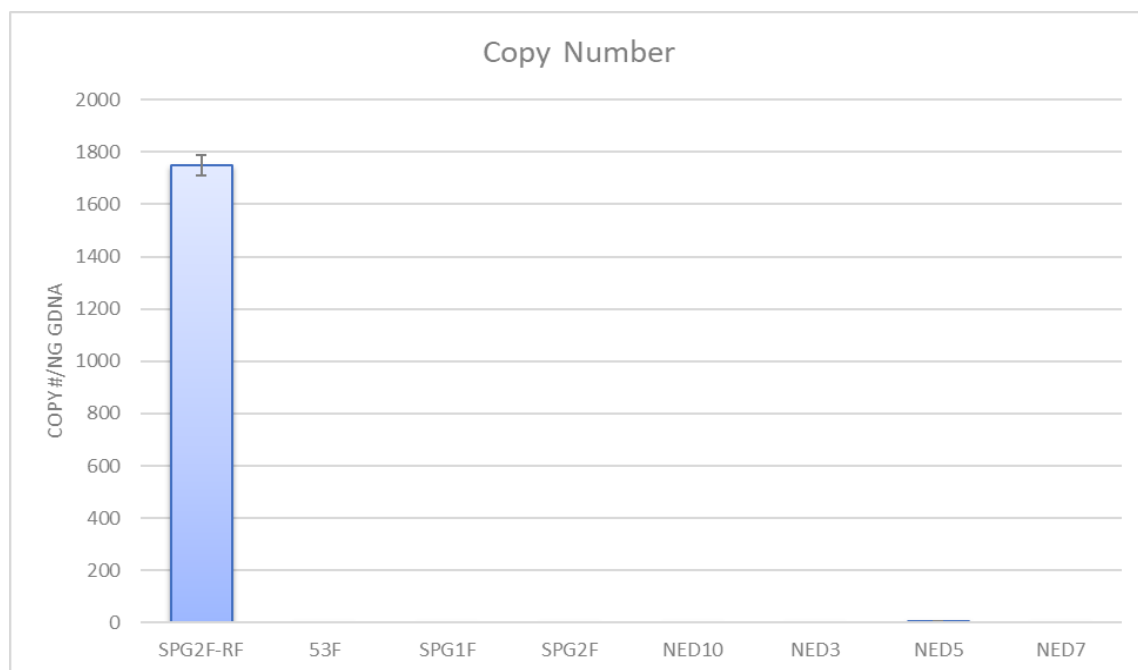
P-CMRC

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

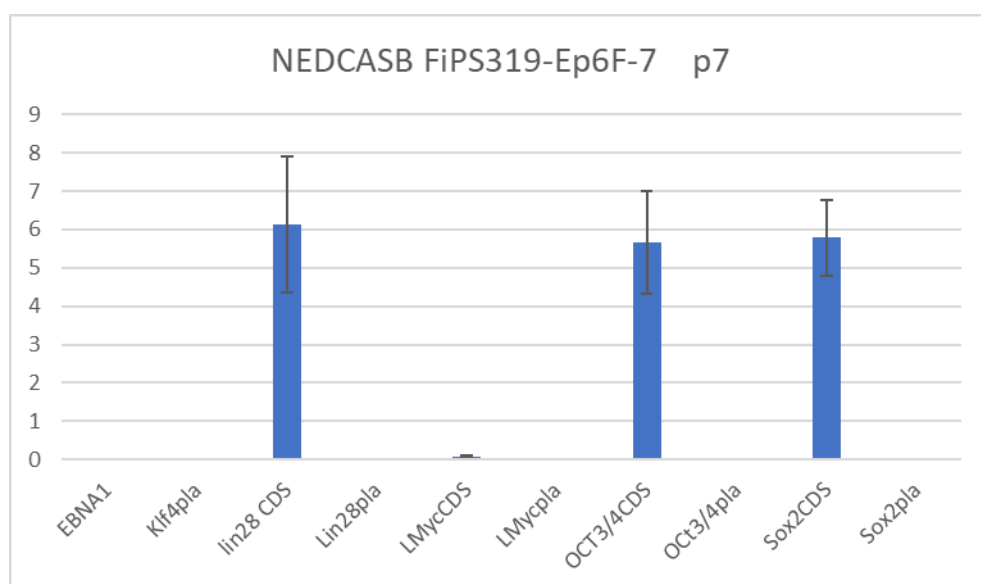


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC (NED3 corresponde a la abreviación de **NEDCASB FiPS319-Ep6F-7**) y en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG2F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección (**SPG2-RF**)



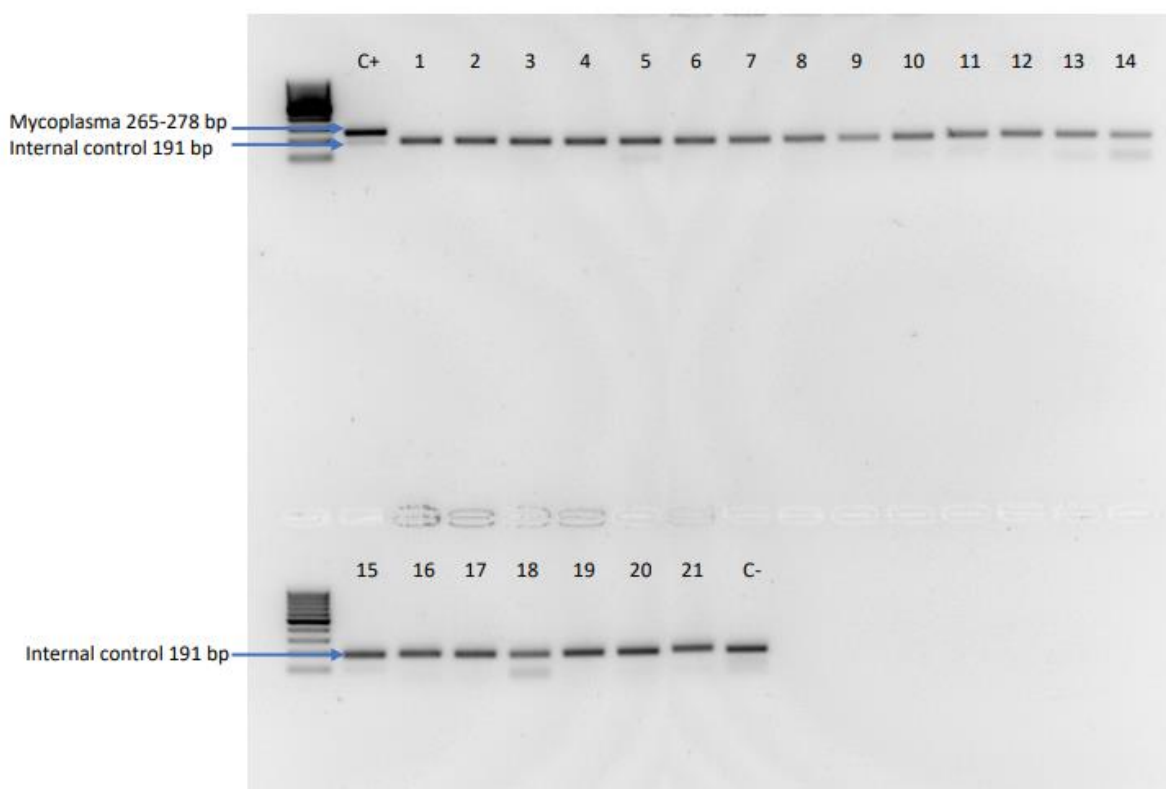
Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **NEDCASB FiPS319-Ep6F-7**



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 15/12/2021



10. NEDCASB FiPS319-Ep6F-3 p8
11. NEDCASB FiPS319-Ep6F-7 p8