

# **ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR FiPS Ctrl2-Ep6F-8 EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES**

## ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

Anexo 4: Estudio microsatélites

Anexo 5: Test de integración

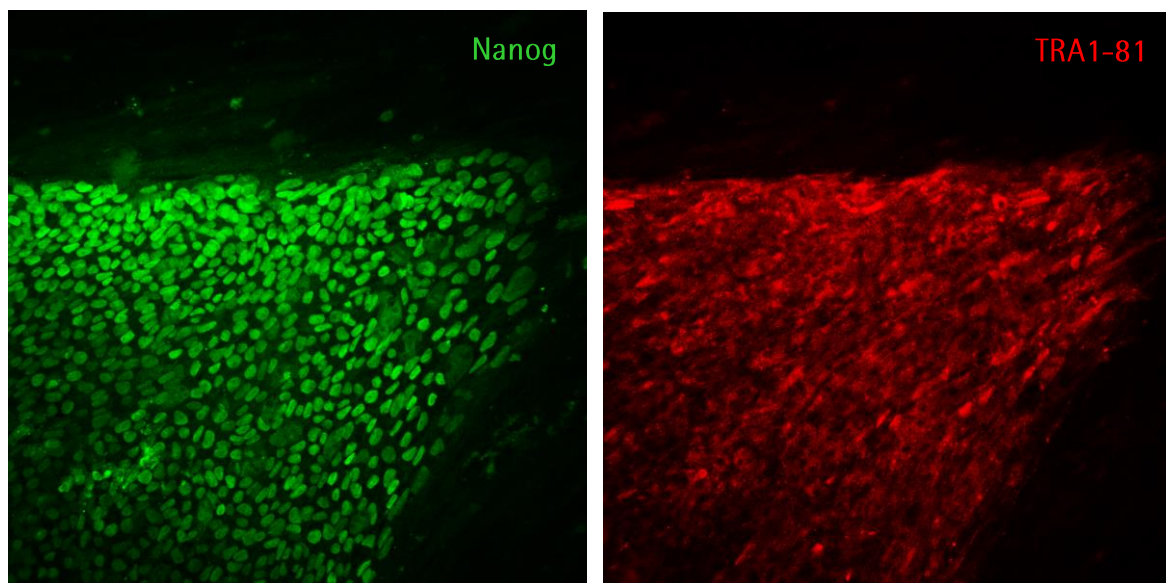
Anexo 6: Test de micoplasma

## **Anexo 1**

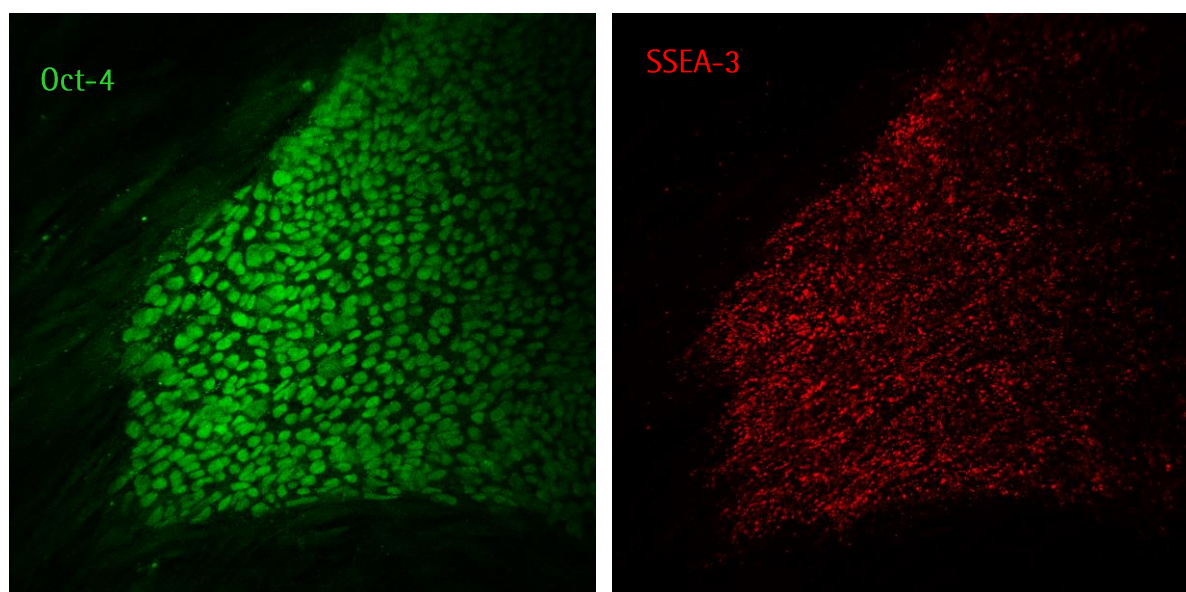
### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**



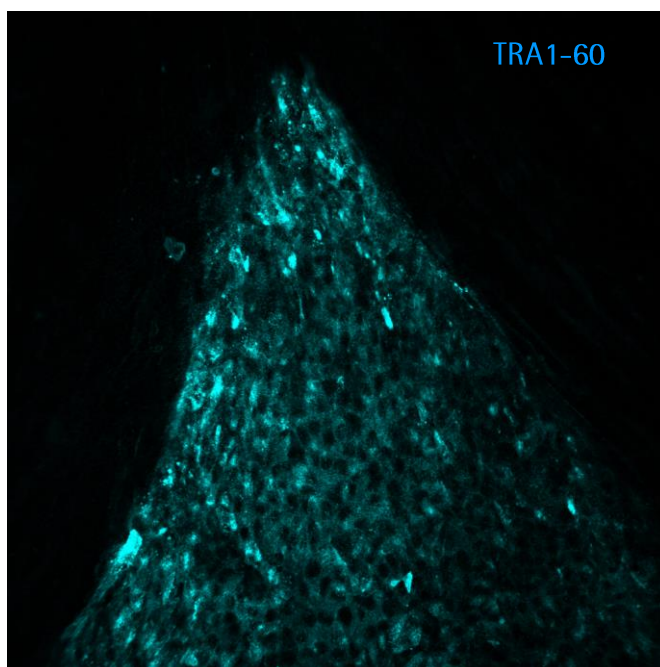
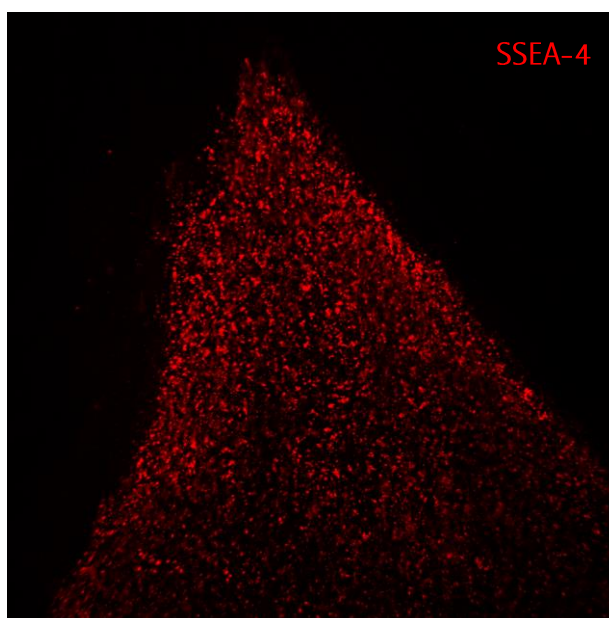
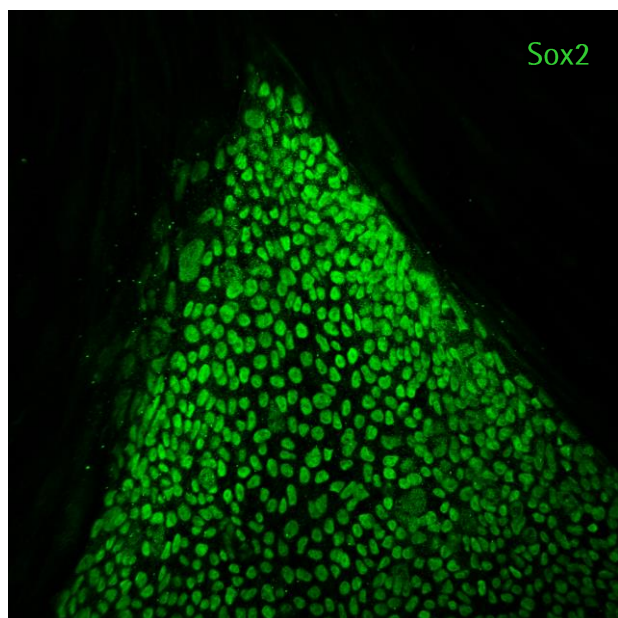
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células madre pluripotentes



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **Nanog** y **TRA1-81**



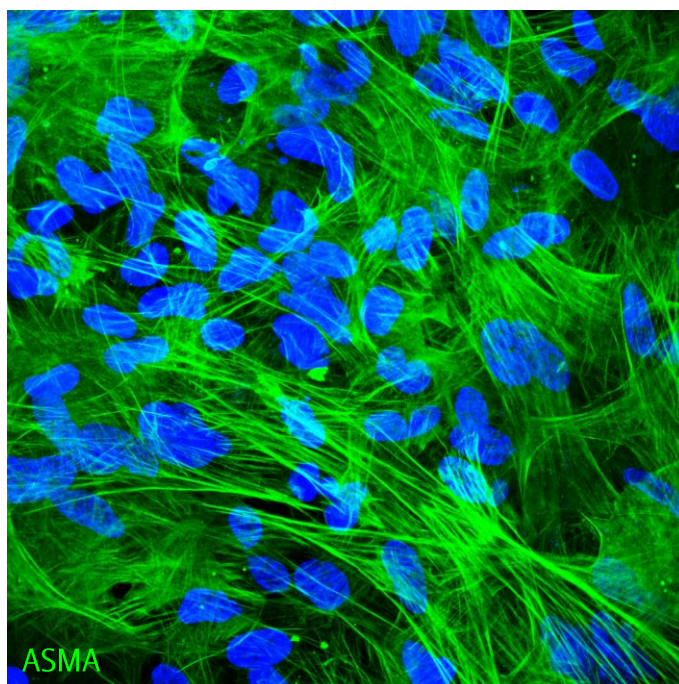
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **Oct-4** y **SSEA-3**



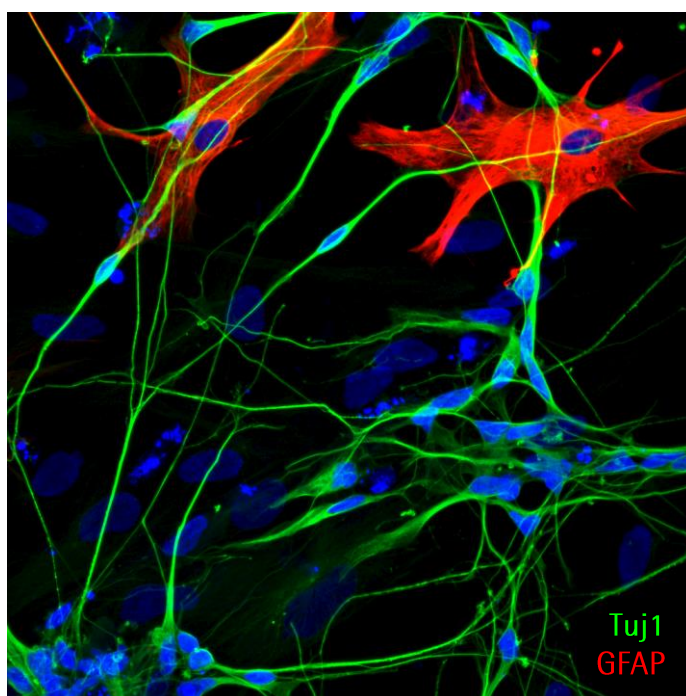
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

## **Anexo 2**

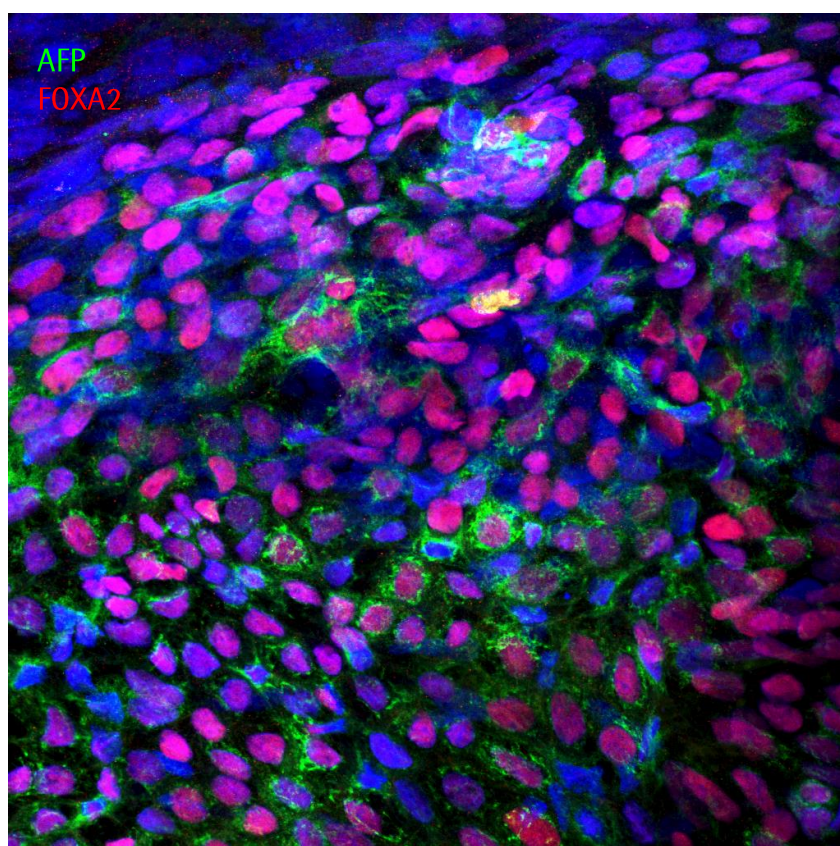
### **Diferenciación *in vitro***



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



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

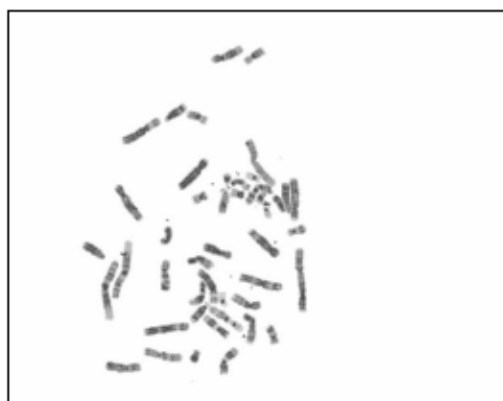
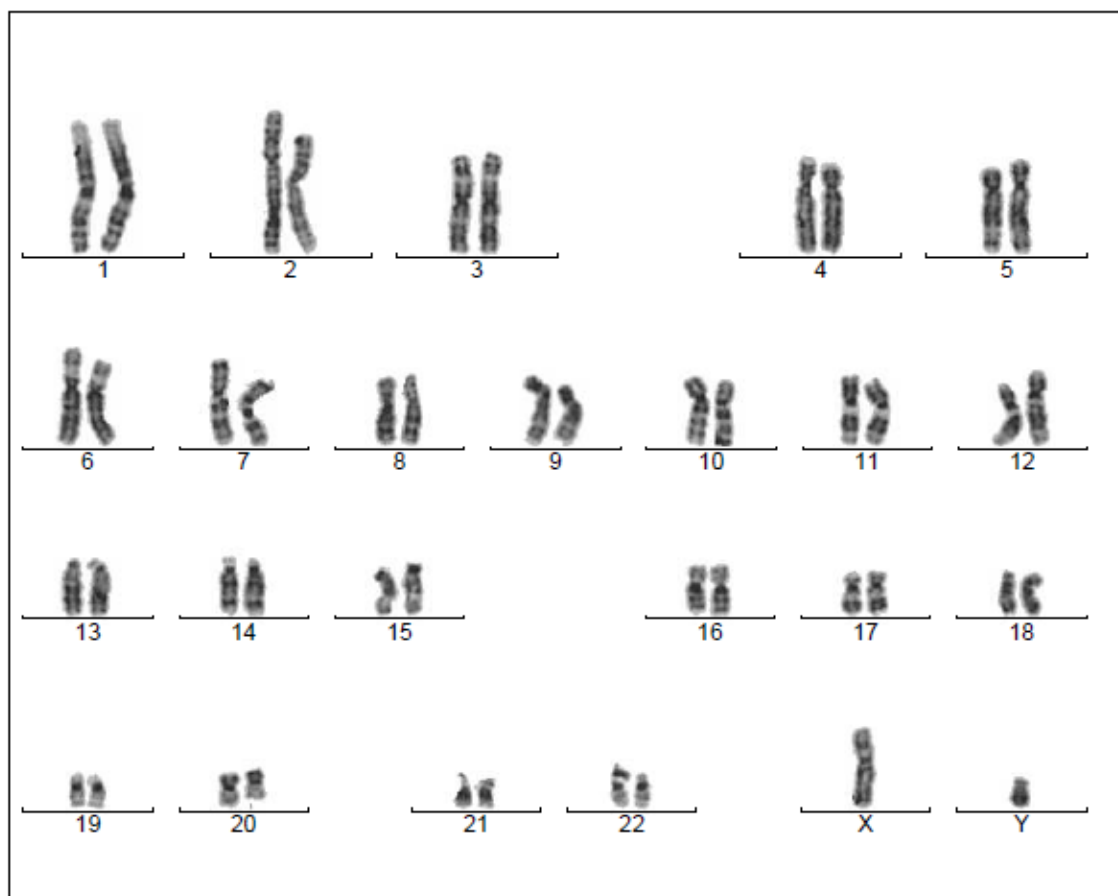


Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP y FOXA2**

## **Anexo 3**

### **Cariotipo**

## Cytogenetic analysis



Case name: A162118

Patient name: FiPS ctrl2-Ep6F-8 p13

Specimen type: stem cells

Result: 46,XY

## **Anexo 4**

### **Estudio microsatélites**



En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a los alelos encontrados para cada uno de los marcadores microsatélites analizados.

| línea celular         | Loci STR analizados |        |         |         |          |        |        |      |      |        |
|-----------------------|---------------------|--------|---------|---------|----------|--------|--------|------|------|--------|
|                       | AMEL                | CSF1PO | D13S317 | D16S539 | D21S11   | D5S818 | D7S820 | TH01 | TPOX | vWA    |
| FiPS ctrl2-Ep6F-8 p11 | X,Y                 | 10, 12 | 11      | 10, 11  | 28, 33.2 | 11, 12 | 10, 11 | 6    | 8, 9 | 14, 15 |

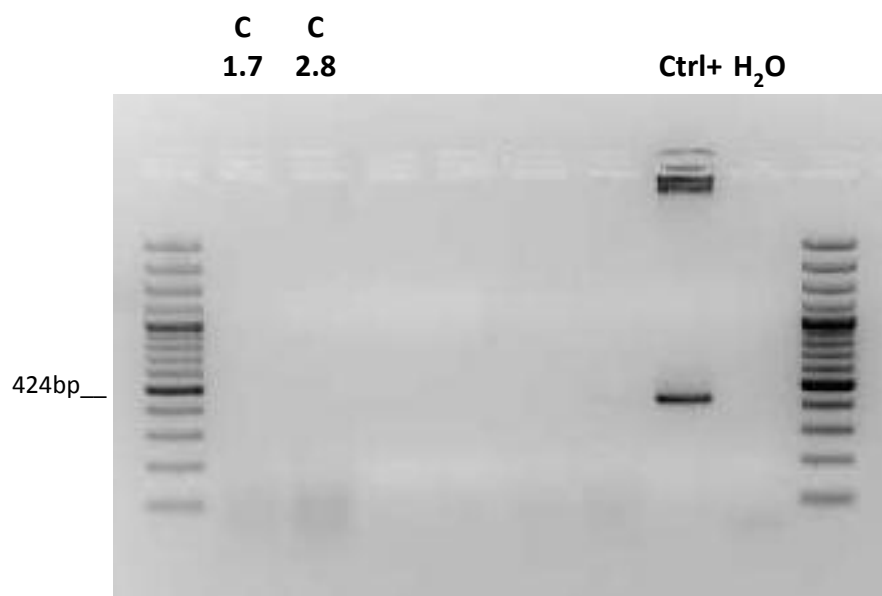
| línea celular | Loci STR analizados |        |         |         |          |        |        |      |      |        |
|---------------|---------------------|--------|---------|---------|----------|--------|--------|------|------|--------|
|               | AMEL                | CSF1PO | D13S317 | D16S539 | D21S11   | D5S818 | D7S820 | TH01 | TPOX | vWA    |
| Ctrl2F-SCS p2 | X,Y                 | 10, 12 | 11      | 10, 11  | 28, 33.2 | 11, 12 | 10, 11 | 6    | 8, 9 | 14, 15 |

Análisis de microsatélites en la línea de células madre pluripotentes **FiPS Ctrl2-Ep6F-8** y en la línea de fibroblastos de la cual proceden.

## **Anexo 5**

### **Estudio de integración**

## PCR- Presence of episomal vector



**C1.7** - hiPSC 15036 FiPS Ctrl1-Ep6F-7

**C2.8** - hiPSC 15041 FiPS Ctrl2-Ep6F-8

**Ctrl +** HFF epi1F GFP

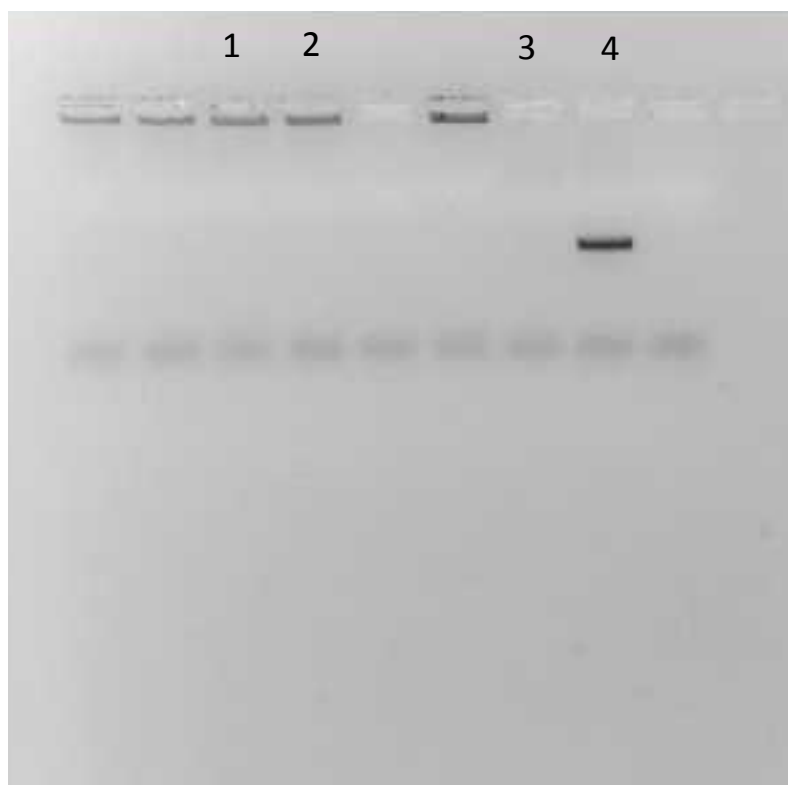
Análisis mostrando la ausencia de secuencias de EBNA-1 de los vectores pCXLE

## **Anexo 6**

### **Test de micoplasma**

## MYCOPLASMA TEST

25-09-2015



1. FiPS Ctrl2-Ep6F-8 p13
2. FiPS Ctrl2-Ep6F-8 p15
3. CT -
4. CT +