



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **ALD FiPS1-Ep6F-11** EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

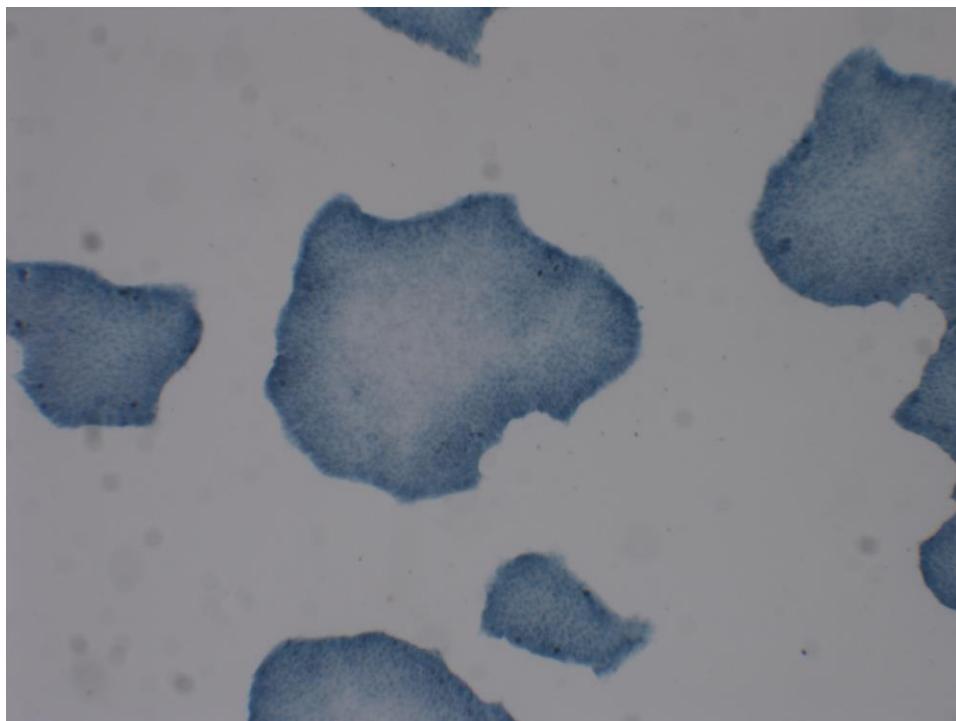
Anexo 4: Resultados microsatélites

Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

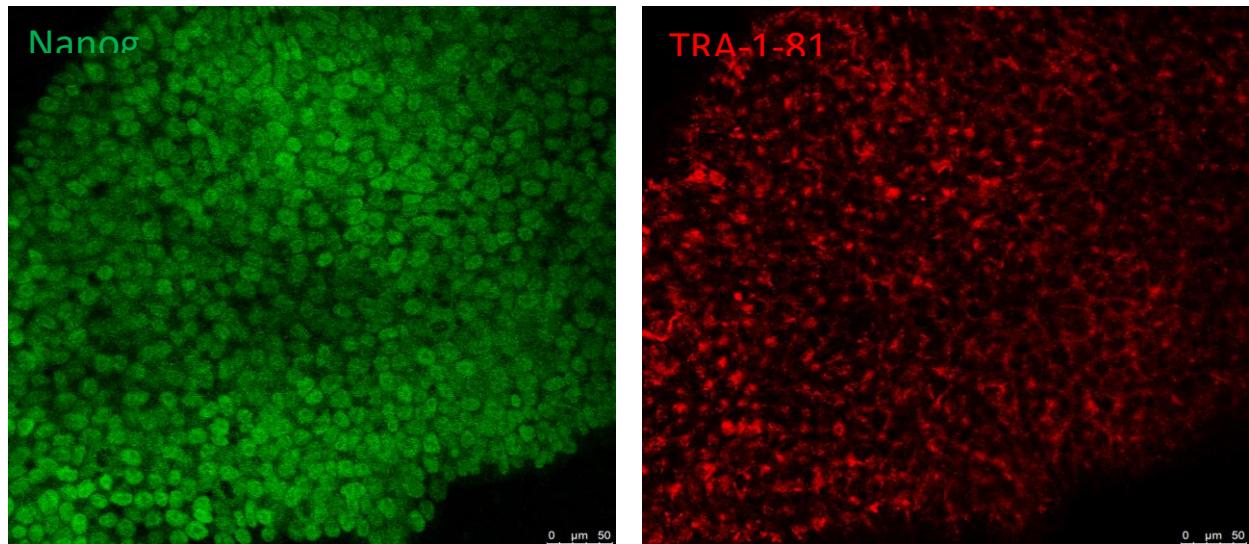
Anexo 6: Resultado test de micoplasma

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

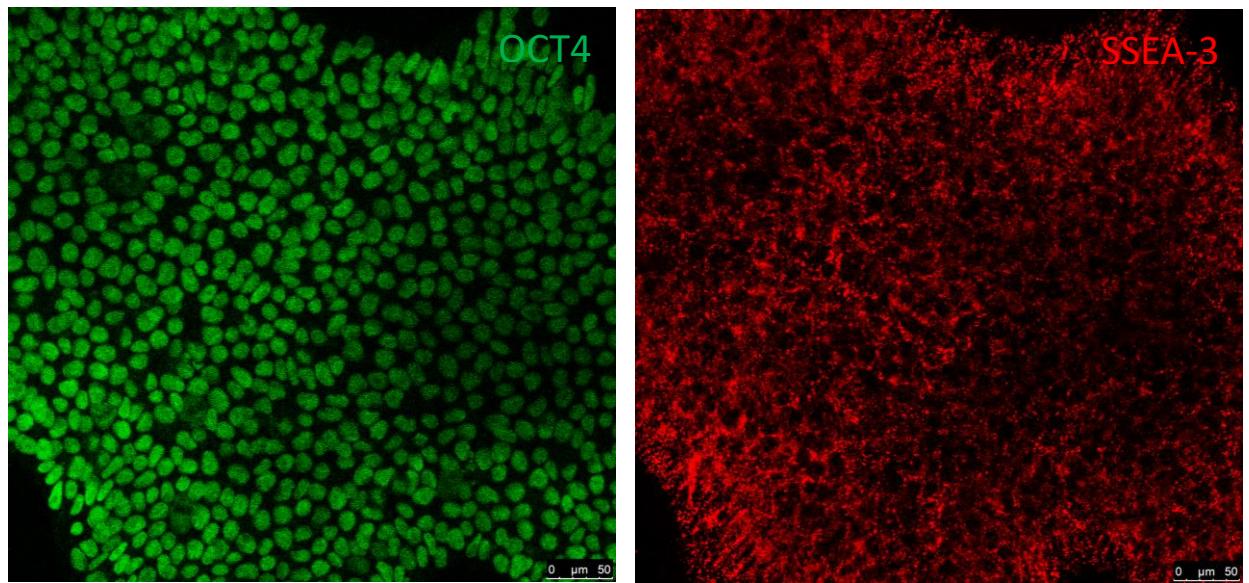


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



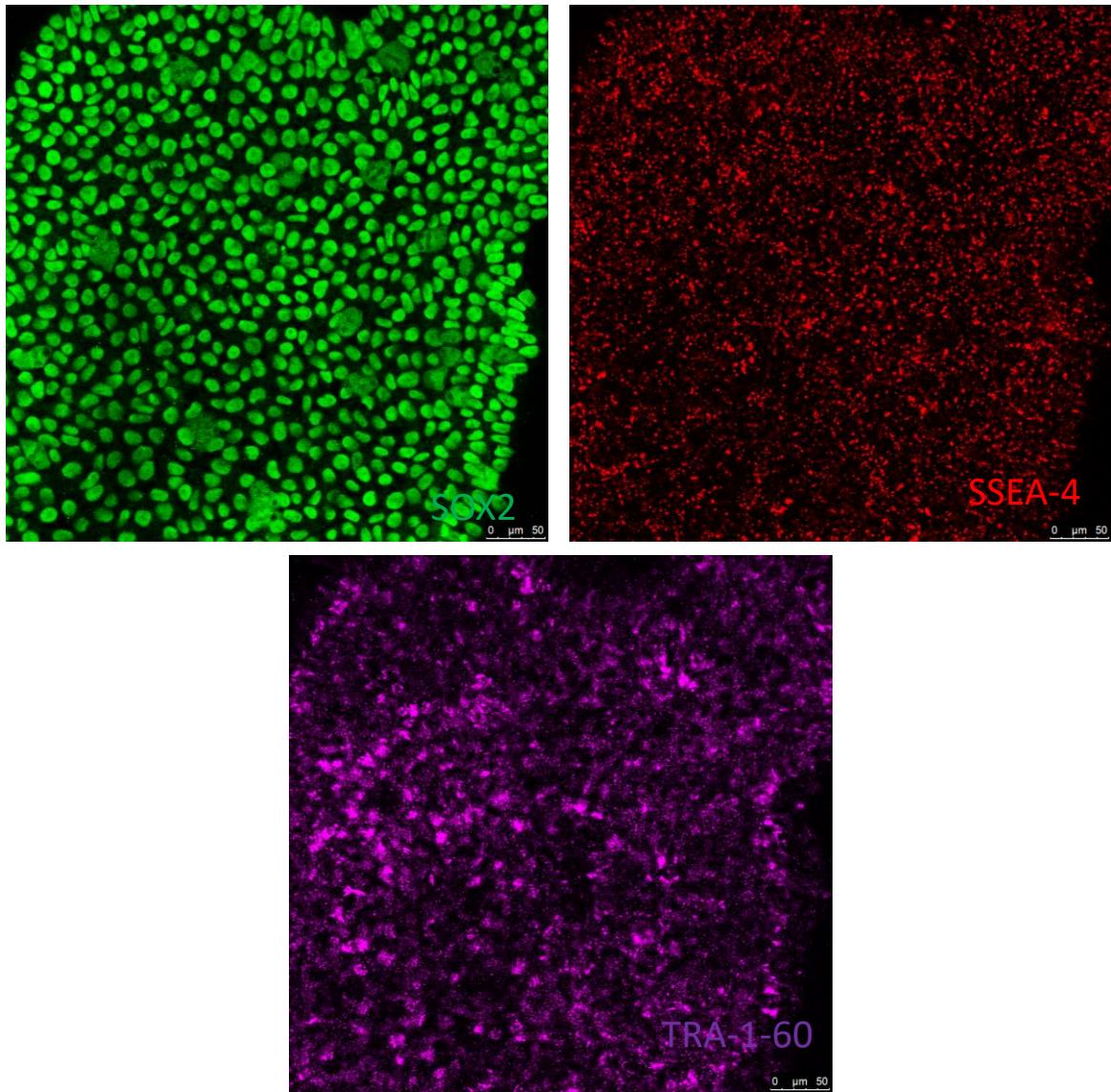
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3

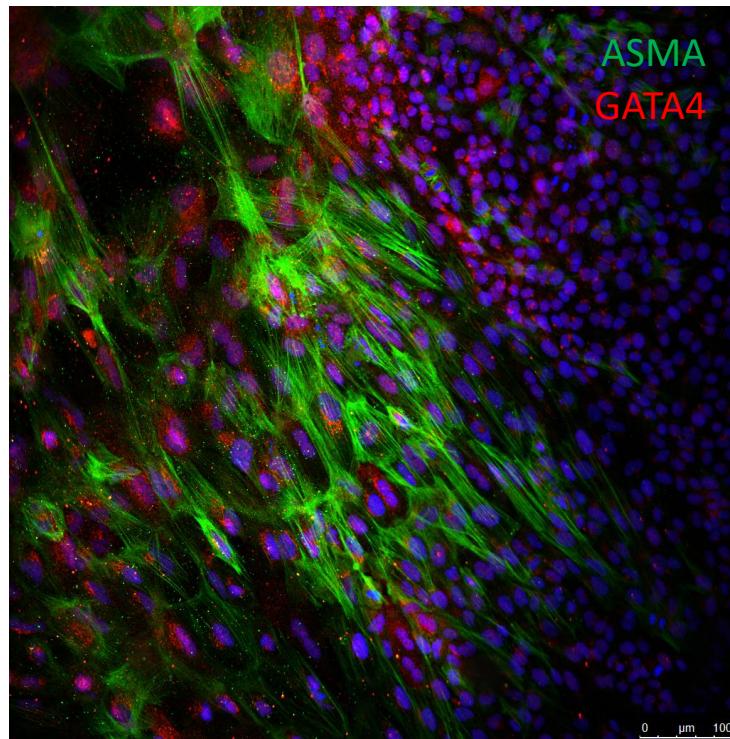


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

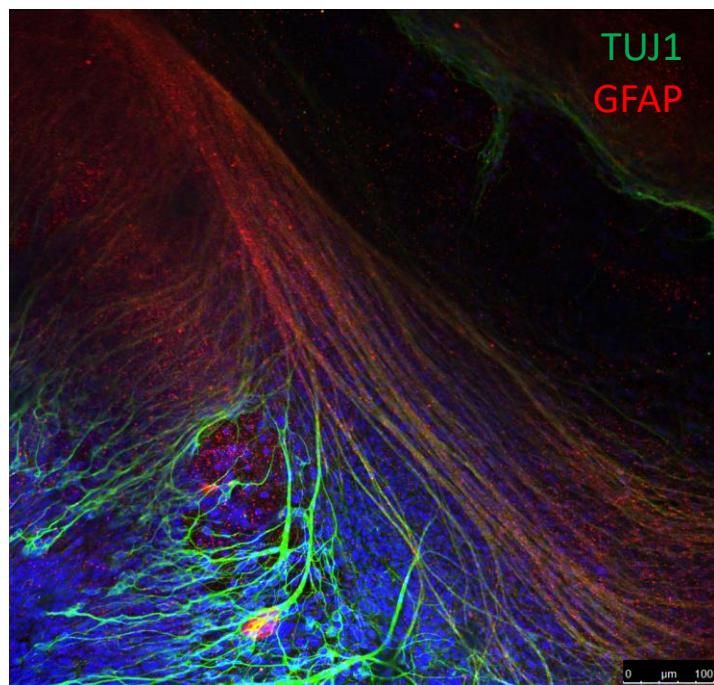
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 2

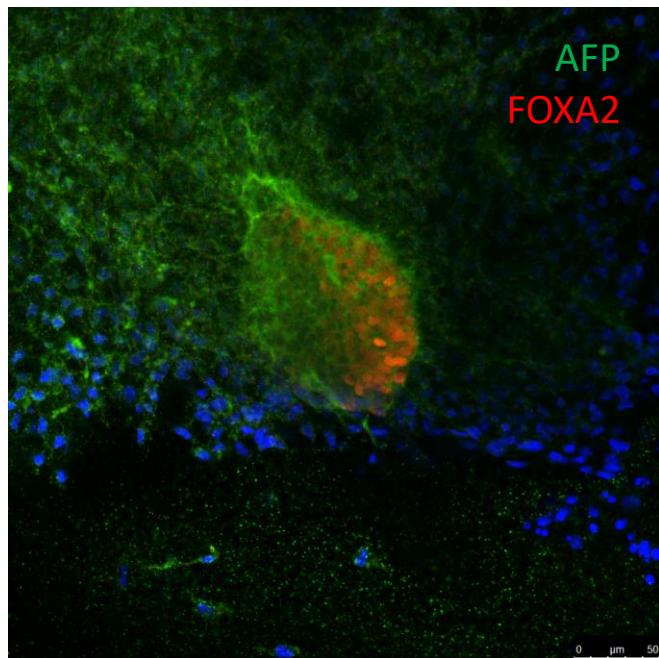
Diferenciación *in vitro*



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: 20550961

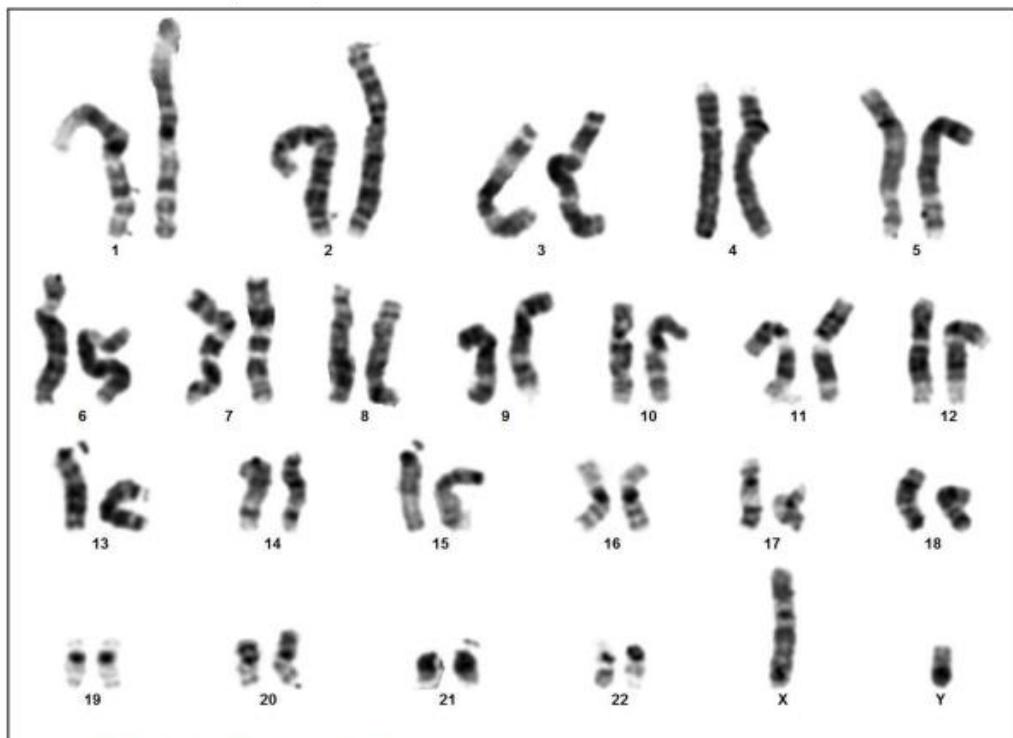
Department: IDIBELL

NHC: CT0378

Sample: CM

Name: ALD FiPS1-Ep6F-11 p13

Date: 3/8/2022



Case: 20550961 Slide: 1 Cell: 1

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	Locí STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
ALD FiPS1-Ep6F-11 p12	7; 9	29; 31.2	11; 13	11; 14	7; 10	11; 13	10; 11	X; Y	17; 18	8; 11

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	Locí STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
Fb JMRC, P8, 30.06.21	7; 9	29; 31.2	11, 13	11; 14	7; 10	11; 13	10; 11	X; Y	17; 18	8; 11

Barcelona, a 14 de julio de 2021

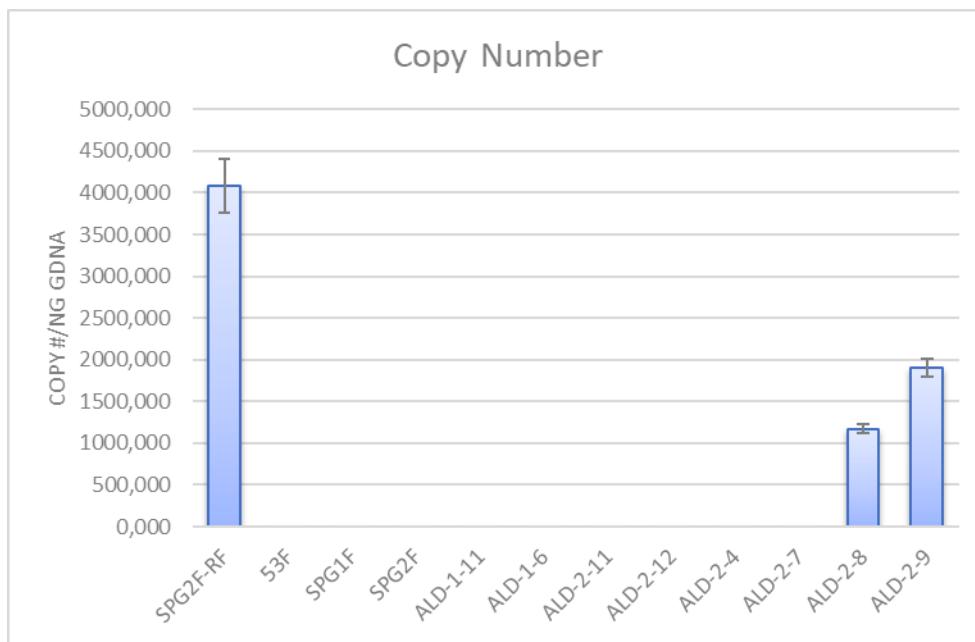
Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

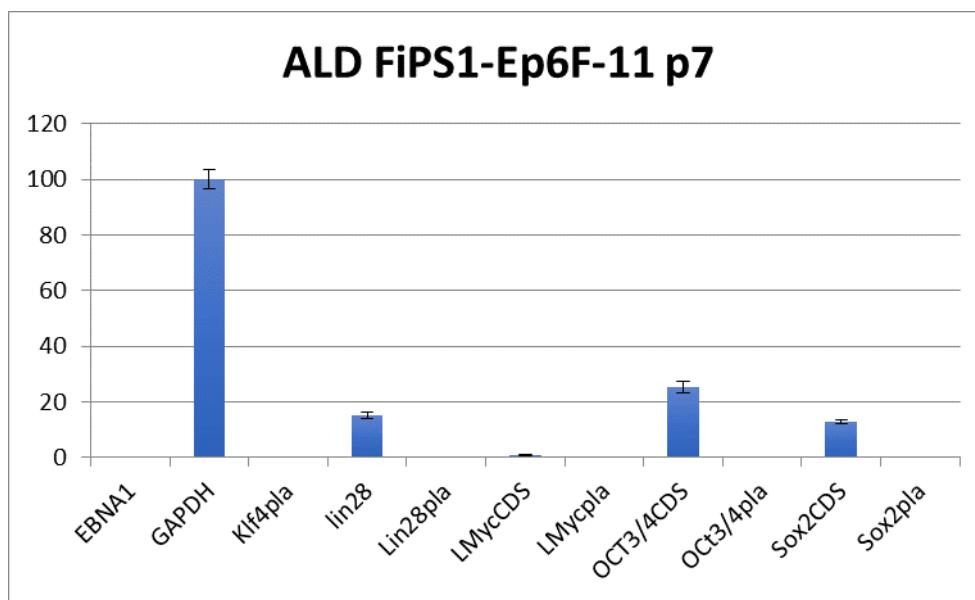
Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.

Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC (ALD-1-11) corresponde a la abreviación de **ALD FiPS1-Ep6F-11** y en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG2F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofeción (**SPG2-RF**)

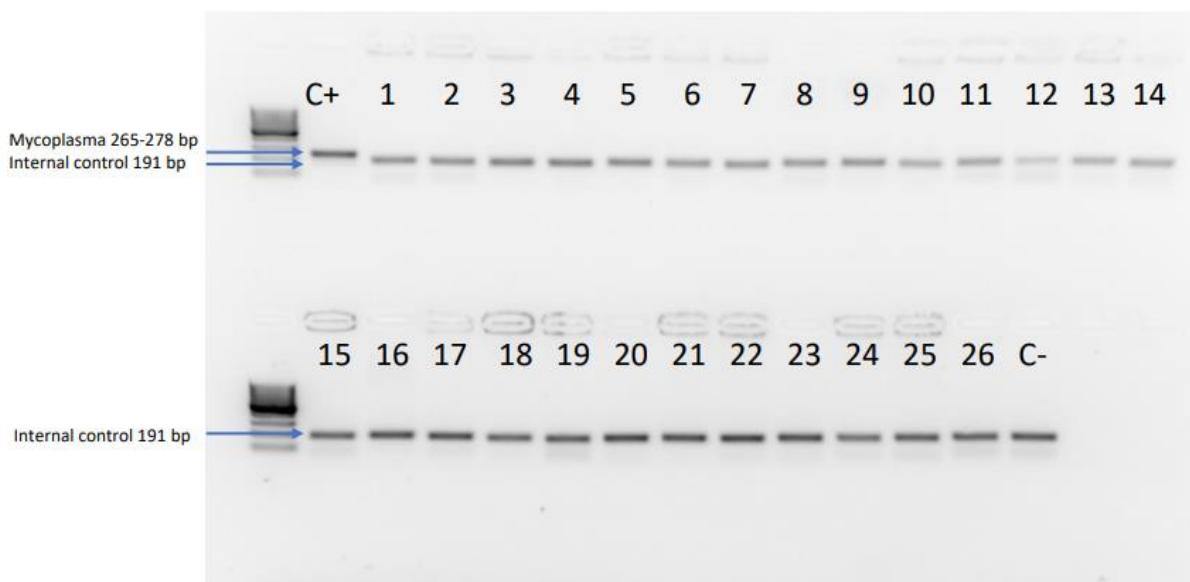


Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **ALD FiPS1-Ep6F-11**



Anexo 6
Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 03/02/2022



- 20. ALD FiPS1-Ep6F-3 p6
- 21. ALD FiPS1-Ep6F-7 p5
- 22. ALD FiPS1-Ep6F-8 p5
- 23. ALD FiPS1-Ep6F-9 p6