



Junta de Andalucía
Consejería Sanidad, Presidencia
y Emergencias
Biobanco del Sistema Sanitario
Público de Andalucía

ANEXOS: ASD-PBiPS1-SV4F-1

Anexo 1: Test de pluripotencia.

Anexo 2: Test de diferenciación in vitro.

Anexo 3: Cariotipo.

Anexo 4: Huella genética por análisis de STR.

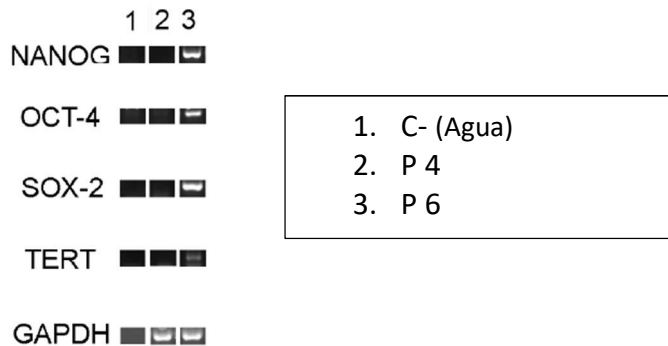
Anexo 5: Test de silenciamiento.

Anexo 6: Test de micoplasma.

Anexo 1. Test de pluripotencia.

La caracterización de la pluripotencia de la línea iPSC generada se llevó a cabo mediante el análisis por PCR de los marcadores NANOG, OCT-4, SOX-2 y TERT. GAPDH se utilizó como control *House-keeping*.

The characterization of the pluripotency of the generated iPSC line was carried out by RT-PCR analysis of the NANOG, OCT-4, SOX-2 and TERT markers. GAPDH was used as "house-keeping" control.

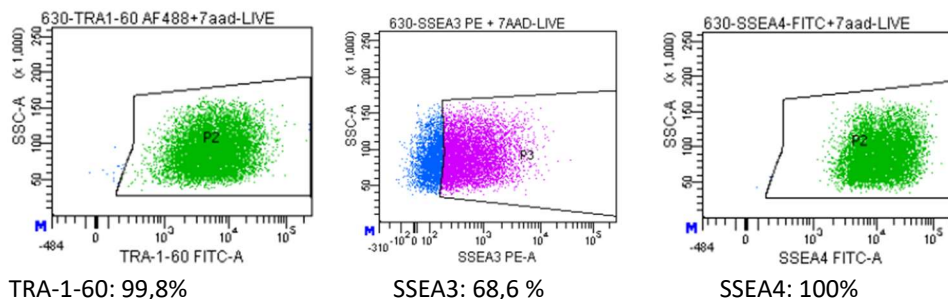


La línea celular presentó expresión de los genes específicos de pluripotencia en el P6. Estos genes no mostraron expresión en pases previos.

The cell line showed expression of the specific pluripotency genes in passage 6. These genes did not show expression in previous passages.

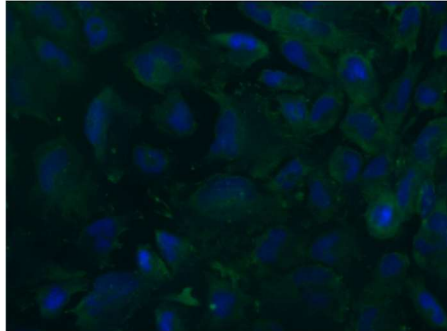
Los marcadores de pluripotencia Tra-1-60, SSEA3, y SSEA4 se determinaron mediante citometría de flujo en el P7.

The pluripotency markers Tra-1-60, SSEA3 y SSEA4 were determined by flow cytometry in passage 7.

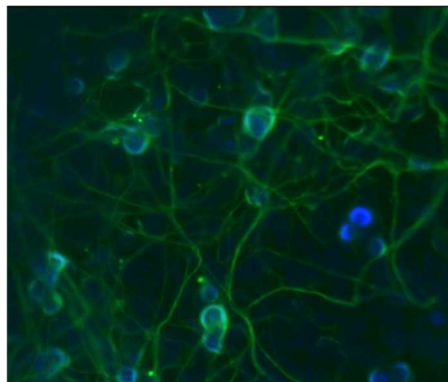


Anexo 2. Test de diferenciación in vitro.

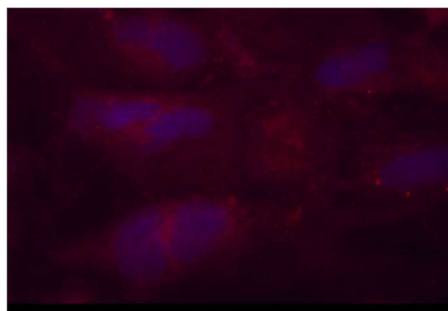
Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Positiva para ASM (alfa-actina de musculo liso).
In vitro differentiation to mesoderm: Positive for ASM (alpha-smooth muscle actin).



Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Positiva para TUJ1 (beta tubulina III).
In vitro differentiation to ectoderm: Positive for TUJ1 (beta tubulin III).



Diferenciación *in vitro* a endodermo: Positiva para AFP (alfa-fetoproteína).
In vitro differentiation to endoderm: Positive for AFP (alpha-fetoprotein).

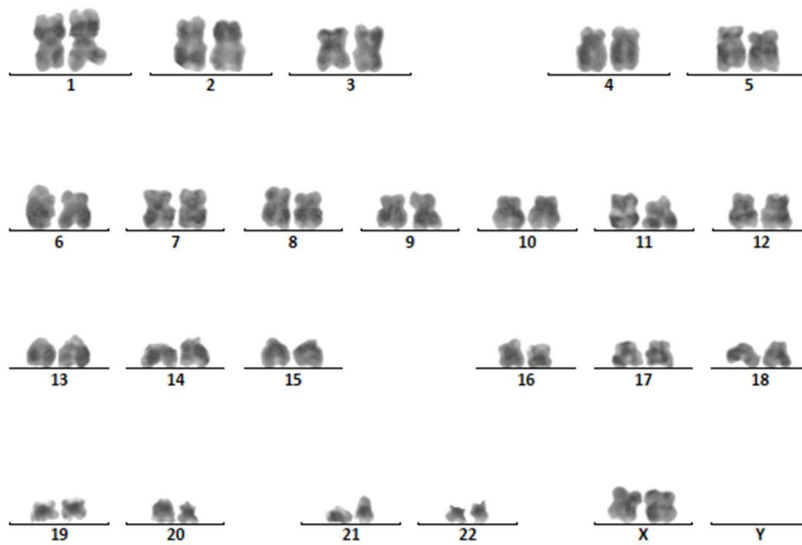




Junta de Andalucía
Consejería Sanidad, Presidencia
y Emergencias
Biobanco del Sistema Sanitario
Público de Andalucía

Anexo 3. Cariotipo.

RESULTADOS ANÁLISIS CITOGENÉTICO



Cariotipo: 46,XX

Diagnóstico citogenético: Línea celular compatible con cariotipo femenino normal

Anexo 4. Huella genética por análisis de STR.

Línea hiPSC
ASD-PBiPS1-SV4F-1

D8S1179	12, 13
D21S11	29, 31.2
D7S820	10, 11
CSP1PO	10
D3S1358	16, 18
TH01	6, 7
D13S317	9, 13
D16S539	12
D2S1338	23, 24
D19S433	14, 16
vWA	16, 17
TPOX	11
D18S51	14, 16
AMEL	X, X
D5S818	12
FGA	21, 22

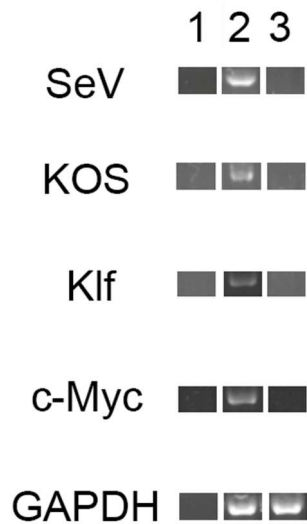
PBMCs de origen

D8S1179	12, 13
D21S11	29, 31.2
D7S820	10, 11
CSP1PO	10
D3S1358	16, 18
TH01	6, 7
D13S317	9, 13
D16S539	12
D2S1338	23, 24
D19S433	14, 16
vWA	16, 17
TPOX	11
D18S51	14, 16
AMEL	X, X
D5S818	12
FGA	21, 22

Anexo 5. Test de silenciamiento.

La confirmación del silenciamiento de los factores de reprogramación exógenos del virus Sendai se llevó a cabo mediante el análisis por PCR de los marcadores Klf4, KOS2, C-Myc y SeV. GAPDH se utilizó como control *House-keeping*.

The confirmation of the silencing of the exogenous reprogramming factors of the Sendai virus was carried out by PCR analysis of the Klf4, KOS2, C-Myc and SeV markers. GAPDH was used as "house-keeping" control.



1. C- (Agua)
2. P4
3. P5

Anexo 6. Test de micoplasma.

La detección de micoplasma se realizó con el kit Venor GeM qEP (Minerva Biolabs) mediante la amplificación específica del gen codificante para el ARNr 16S del micoplasma. El kit incluye un control interno de amplificación.

Mycoplasma detection was performed using the Venor GeM qEP kit (Minerva Biolabs) by specific amplification of the gene encoding the 16S rRNA of mycoplasma. The kit includes an internal amplification control.

MUESTRA	AMPLIFICACIÓN MYCOPLASMA	AMPLIFICACIÓN CONTROL INTERNO
Control -	-	+
Control +	+	+
ASD-PBiPS1-SV4F-1	-	+