



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **CdLS FiPS24-Ep6F-1** 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

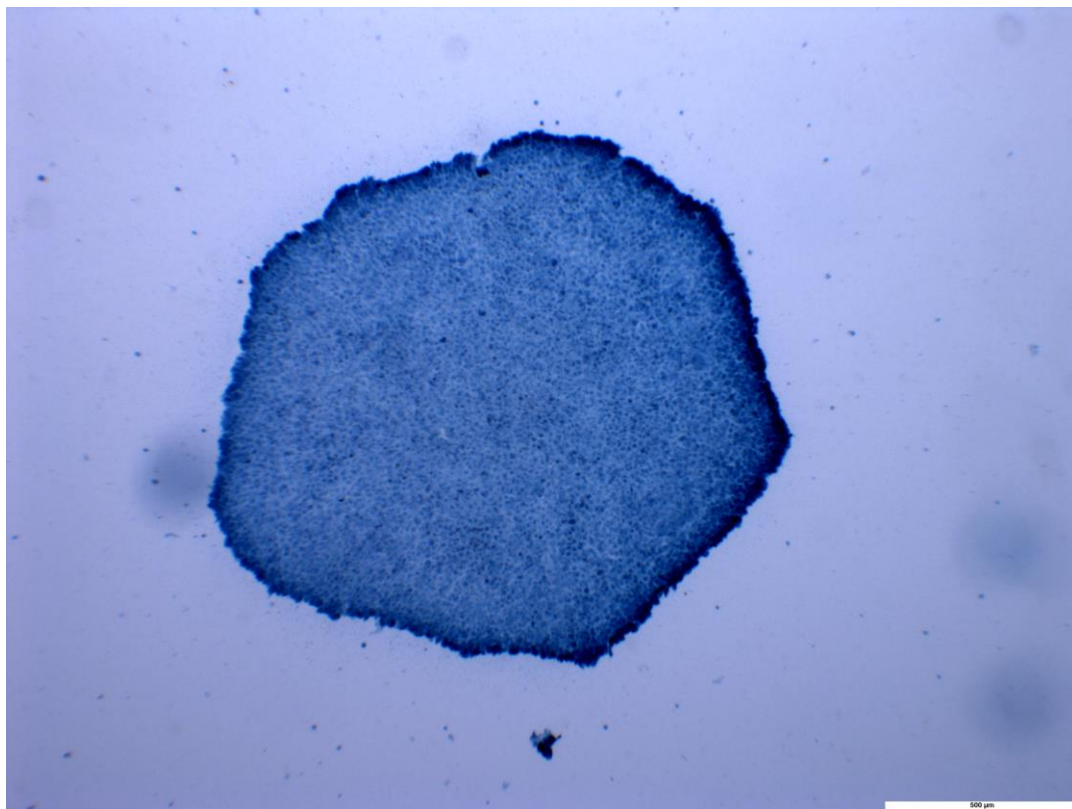
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

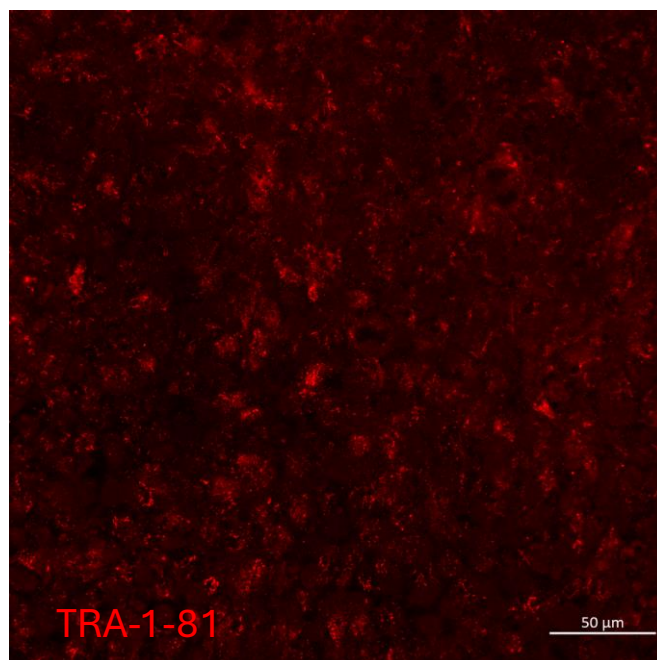
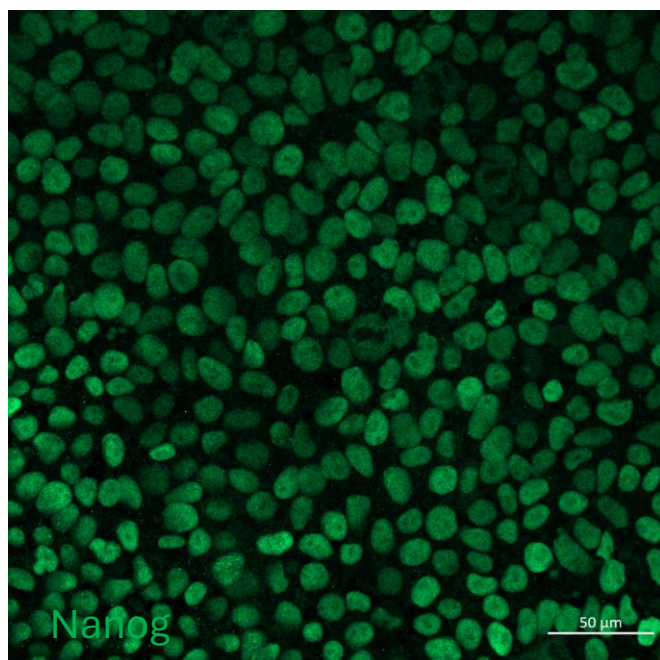


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

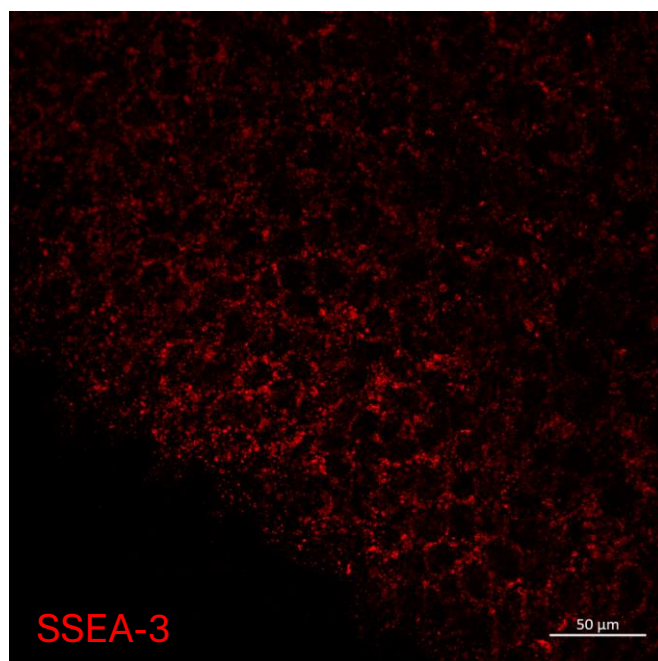
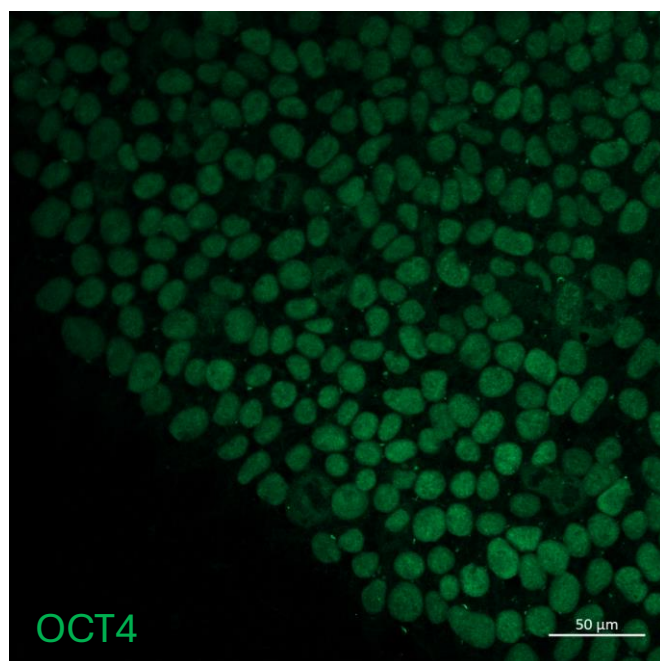


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



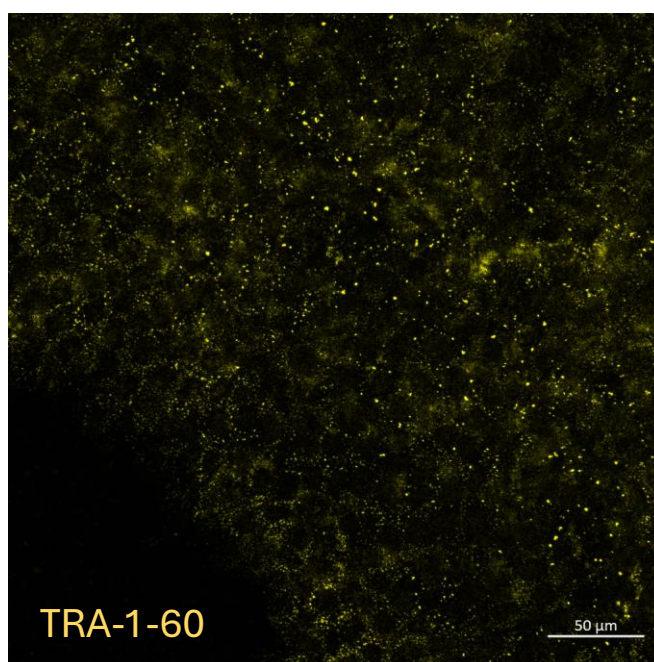
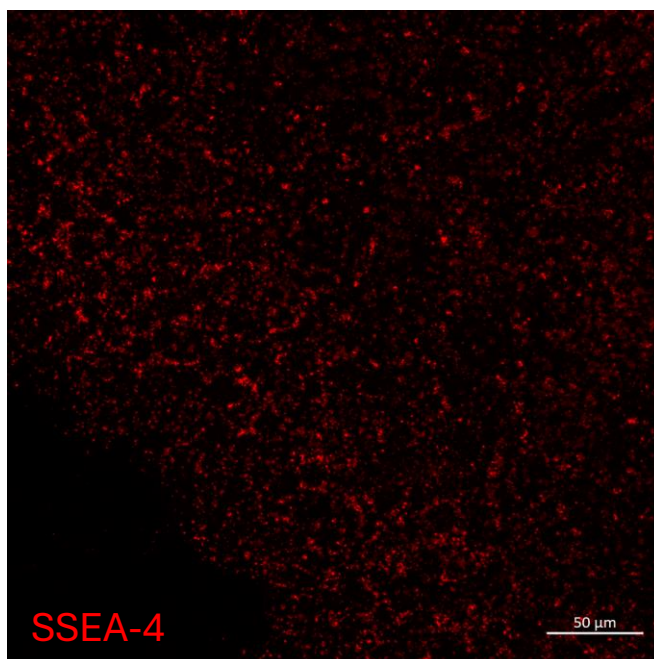
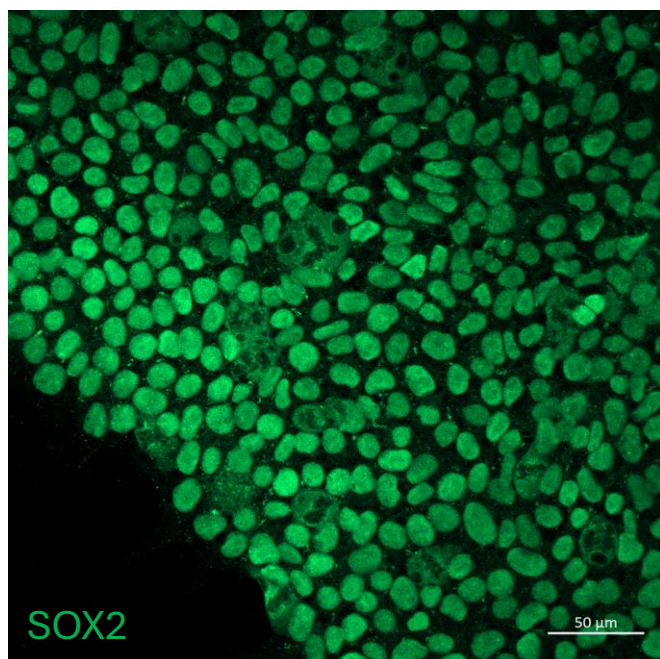
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



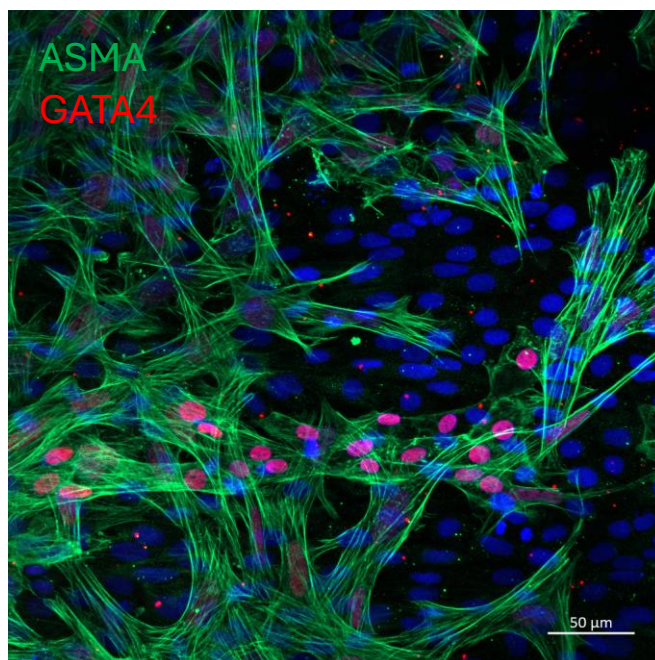
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

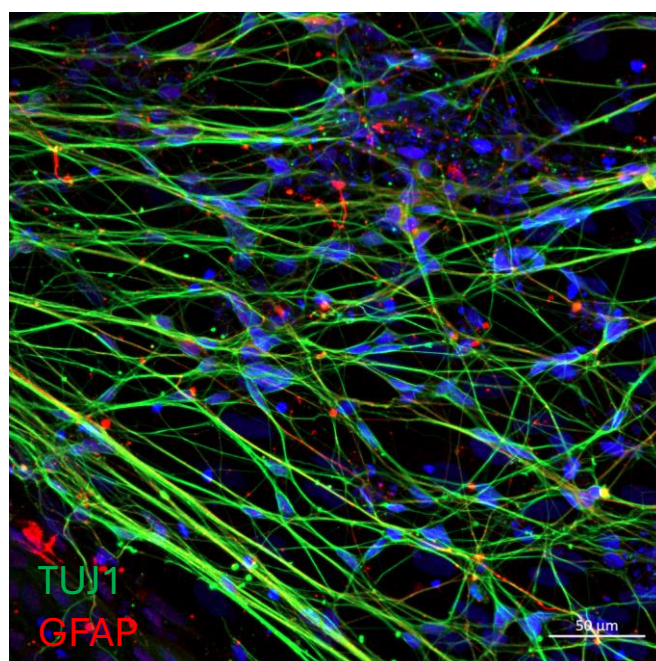


Anexo 2

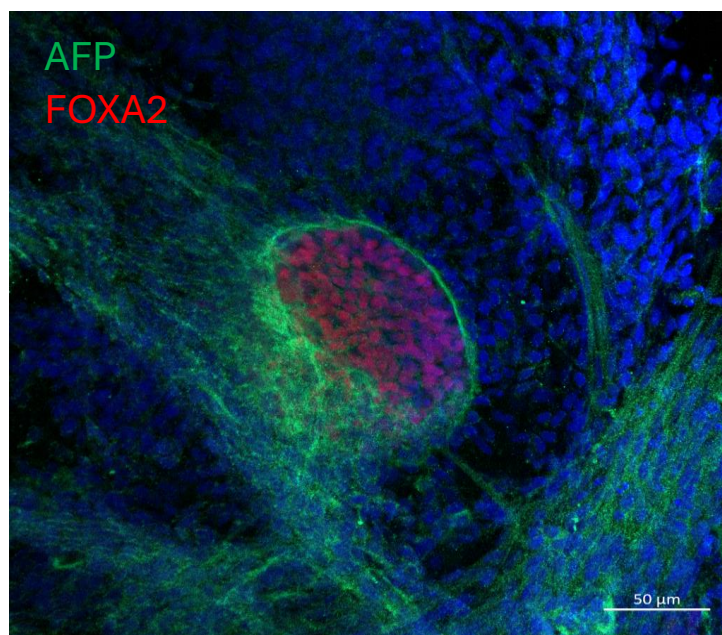
Diferenciación *in vitro*



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: 32561039

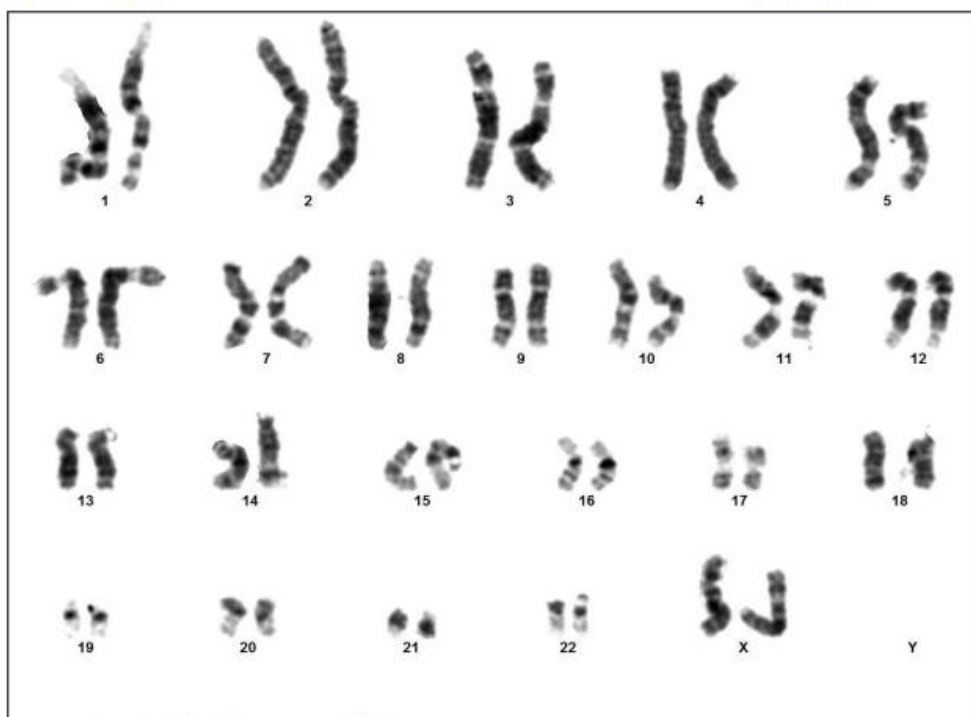
Name: CdLS FiPS24-Ep6F-1 p12

NHC: CT0653

Department: IDIBELL

Date: 9/20/2023

Sample: CM



Case: 32561039 Slide: 2 Cell: 4F

Result: 46,XX



Anexo 4

Resultado microsatélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
CDLS_FIPS24_EP6F-1 P14	CDLS_FIPS24_EP6F-1 P14	1221793	Extracte DNA

Descripció de l'estudi

L'estudi de consisteix en l'anàlisi de microsatèl·lits o "short tandem repeats" (STR) de DNA procedent determinades línies cel·lulars. El procediment seguit ha estat el següent:

- . PCR - Amplificació de 15 regions de DNA (STR- short tandem repeats) amb els Kit de Genotipat AmpFLSTR® Identifier® Plus PCR Amplification Kit. La combinació d'aquestes 15 regions constitueix el perfil genètic (Impressió digital genètica)
- . Electroforesi capil·lar – Lectura del perfil genètic de la mostra.
- . Software d'anàlisi – Assignació del perfil genètic.

Resultats

Marcadors Genètics	Localització cromosòmica	Al·lels mostra	
		1221793	
D8S1179	8	10	13
D21S11	21q11.2-q21	30	30
D7S820	7q11.21-22	8	9
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	16	18
TH01	11p15.5	6	6
D13S317	13q22-31	12	13
D16S539	16q24-qter	9	12
D2S1338	2q35-37.1	17	23
D19S433	19q12-13.1	13	13
VWA	12p12-pter	14	19
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	11	12
D5S818	5q21-31	11	11
FGA	4q28	20	23
AMELOGENINA*	X: p22.1-22.3- Y: p11.2	X	X

*Amelogenina: Resultat al·lel relatiu al sexe cromosòmic: XX (sexe femení); XY (sexe masculí)

L'Hospitalet del Llobregat, 20/12/2023



Dr. J.V. Martínez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
FB C0024		1221787	Extracte DNA

Descripció de l'estudi

L'estudi de consisteix en l'anàlisi de microsatèl·lits o "short tandem repeats" (STR) de DNA procedent determinades línies cel·lulars. El procediment seguit ha estat el següent:

- . PCR - Amplificació de 15 regions de DNA (STR- short tandem repeats) amb els Kit de Genotipat AmpFLSTR® Identifier® Plus PCR Amplification Kit. La combinació d'aquestes 15 regions constitueix el perfil genètic (impressió digital genètica)
- . Electroforesi capil·lar – Lectura del perfil genètic de la mostra.
- . Software d'anàlisi – Assignació del perfil genètic.

Resultats

Marcadors Genètics	Localització cromosòmica	Al·lels mostra 1221787	
D8S1179	8	10	13
D21S11	21q11.2-q21	30	30
D7S820	7q11.21-22	8	9
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	16	18
TH01	11p15.5	6	6
D13S317	13q22-31	12	13
D16S539	16q24-qter	9	12
D2S1338	2q35-37.1	17	23
D19S433	19q12-13.1	13	13
VWA	12p12-pter	14	19
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	11	12
D5S818	5q21-31	11	11
FGA	4q28	20	23
AMELOGENINA*	X: p22.1-22.3- Y: p11.2	X	X

*Amelogenina: Resultat al·lel relatiu al sexe cromosòmic: XX (sexe femení); XY (sexe masculí)

L'Hospitalet del Llobregat, 29/11/2023

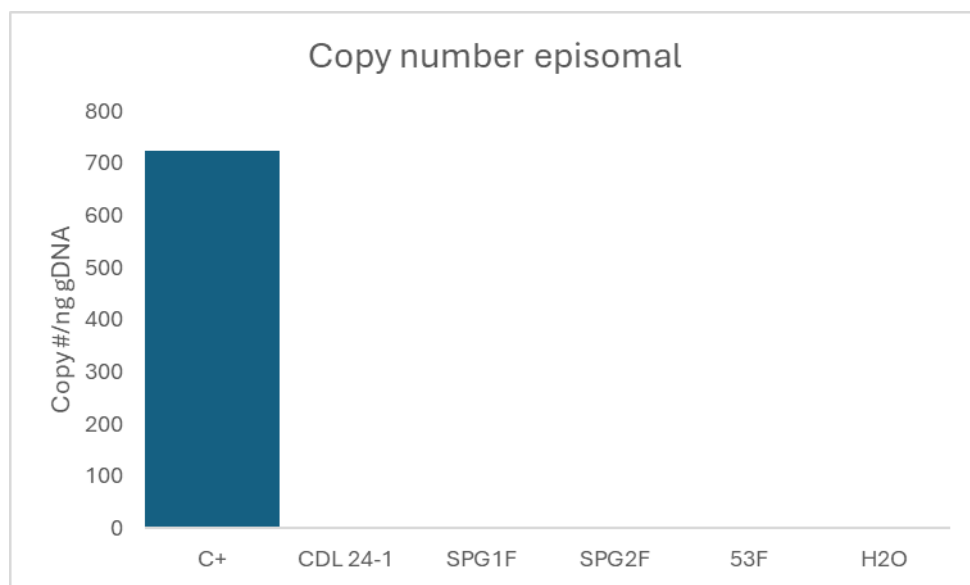


Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

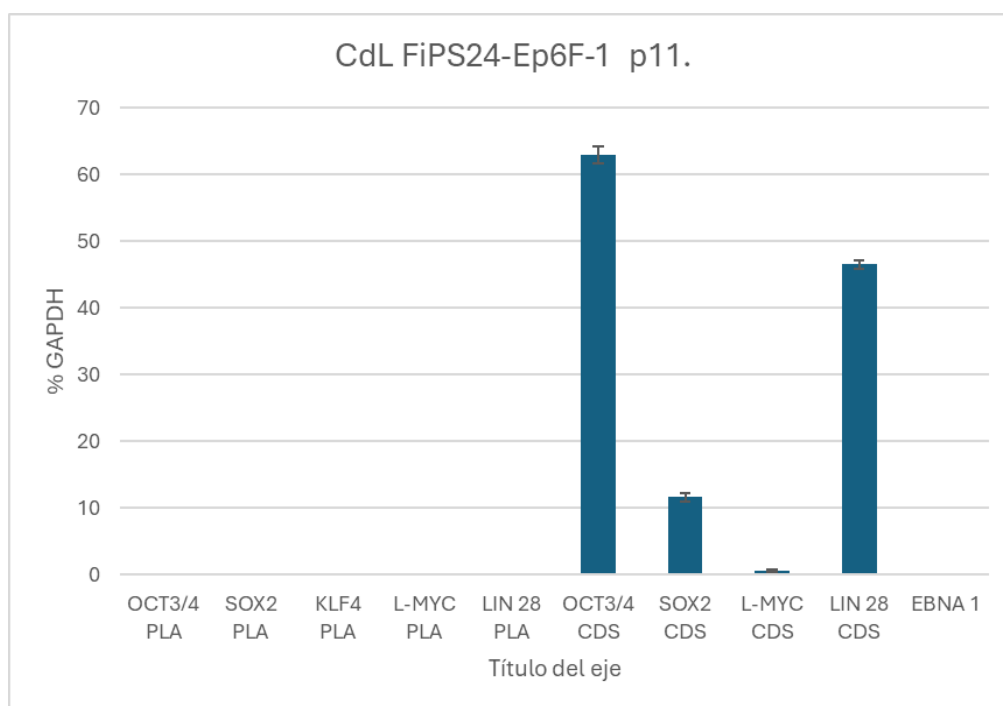
Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.

Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC (**CDL24-1** corresponde a la abreviación de **CdLS FiPS24-Ep6F-1**) y en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG1F y SPG2F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección (**C+**)



Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **CdLS FiPS24-Ep6F-1**



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 11/10/2023

