



Junta de Andalucía

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

ANEXOS: PV-PBiPS1-SV4F-4

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.

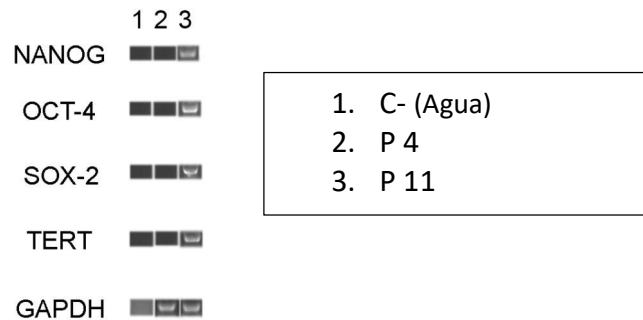


Junta de Andalucía
Consejería Sanidad, Presidencia
y Emergencias
Biobanco del Sistema Sanitario
Público de Andalucía

Anexo 1. Test de pluripotencia.

La caracterización de la pluripotencia de la línea iPSC generada se llevó a cabo mediante el análisis por RT-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.

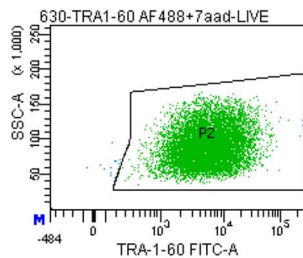


La línea celular presentó expresión de los genes específicos de pluripotencia en el P11. Estos genes no mostraron expresión en pases previos.

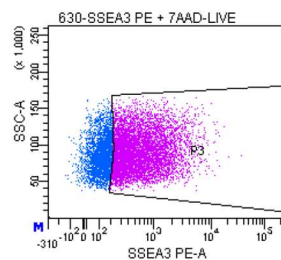
The cell line showed expression of the specific pluripotency genes in passage 11. These genes did not show expression in previous passages.

Los marcadores de pluripotencia Tra-1-60, SSEA3, y SSEA4 se determinaron mediante citometría de flujo en el pase 12.

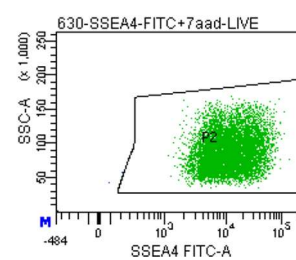
The pluripotency markers Tra-1-60, SSEA3 y SSEA4 were determined by flow cytometry in passage 12.



TRA-1-60: 99,8%



SSEA3: 68,6%



SSEA4: 99,9%



Junta de Andalucía

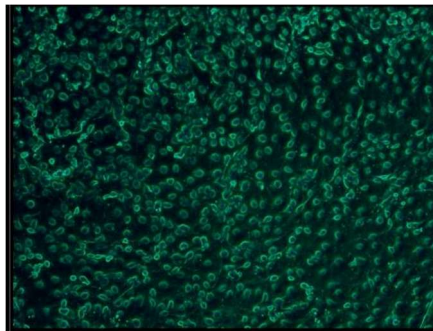
Consejería Sanidad, Presidencia
y Emergencias

Biobanco del Sistema Sanitario
Público de Andalucía

Anexo 2. Test de diferenciación *in vitro*.

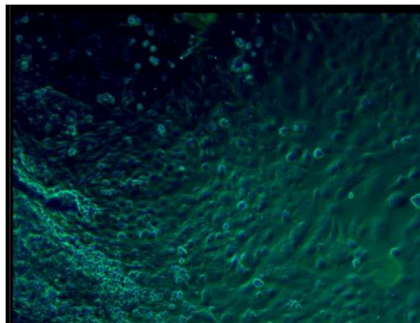
Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Positiva para ASM (alfa-actina de musculo liso).

In vitro differentiation to mesoderm: Positive for ASM (alpha-smooth muscle actin).



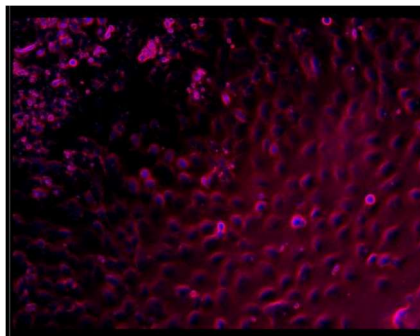
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Positiva para TUJ1 (beta tubulina III).

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 CITOGÉNÉTICO



Cariotipo: 46,XX

Diagnóstico citogenético: Línea celular compatible con cariotipo femenino normal

Comentarios cariotipo: El resultado del estudio está limitado por la sensibilidad de la técnica.



Junta de Andalucía

Consejería Sanidad, Presidencia
y Emergencias

Biobanco del Sistema Sanitario
Público de Andalucía

Anexo 4. Huella genética por análisis de STR.

STR	PBMCs de origen	PV-PBiPS1-SV4F-4
D8S1179	10,12	10,12
D21S11	30,31	30,31
D7820	10,11	10,11
CSP1PO	10,11	10,11
D3S1358	14,17	14,17
TH01	6,9.3	6,9.3
D13S317	10,14	10,14
D16S539	11	11
D2S1338	22,25	22,25
D19S433	14,15	14,15
Vwa	17,18	17,18
TPOX	8	8
D18S51	14	14
AMEL	X, X	X, X
D5S818	11,13	11,13
FGA	20,26	20,26



Junta de Andalucía

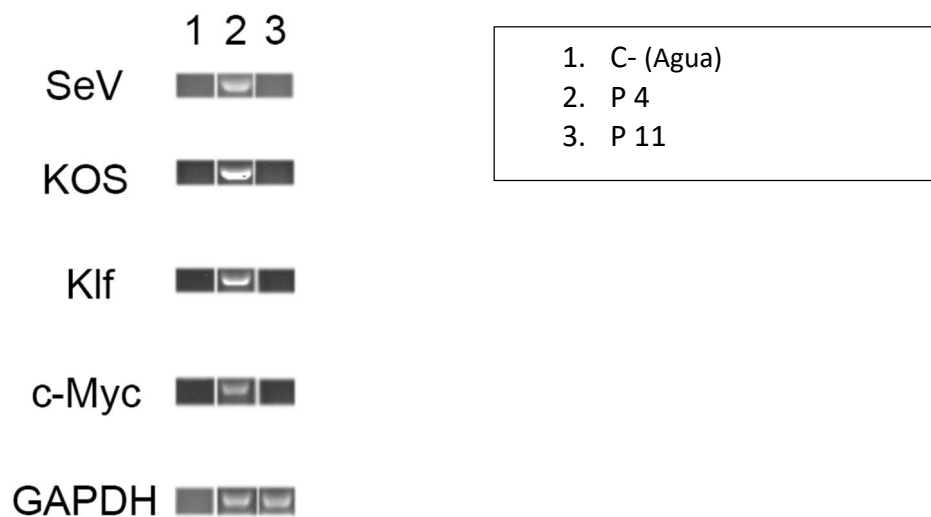
Consejería Sanidad, Presidencia
y Emergencias

Biobanco del Sistema Sanitario
Público de Andalucía

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.





Junta de Andalucía

Consejería Sanidad, Presidencia
y Emergencias

Biobanco del Sistema Sanitario
Público de Andalucía

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 +	+	+
PV-PBiPS1-SV4F-4	-	+