

# **ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [SWB]FiPS1-R4F-5 EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES**

## ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Diferenciación *in vivo*

Anexo 4: Cariotipo

Anexo 5: Resultados microsatélites

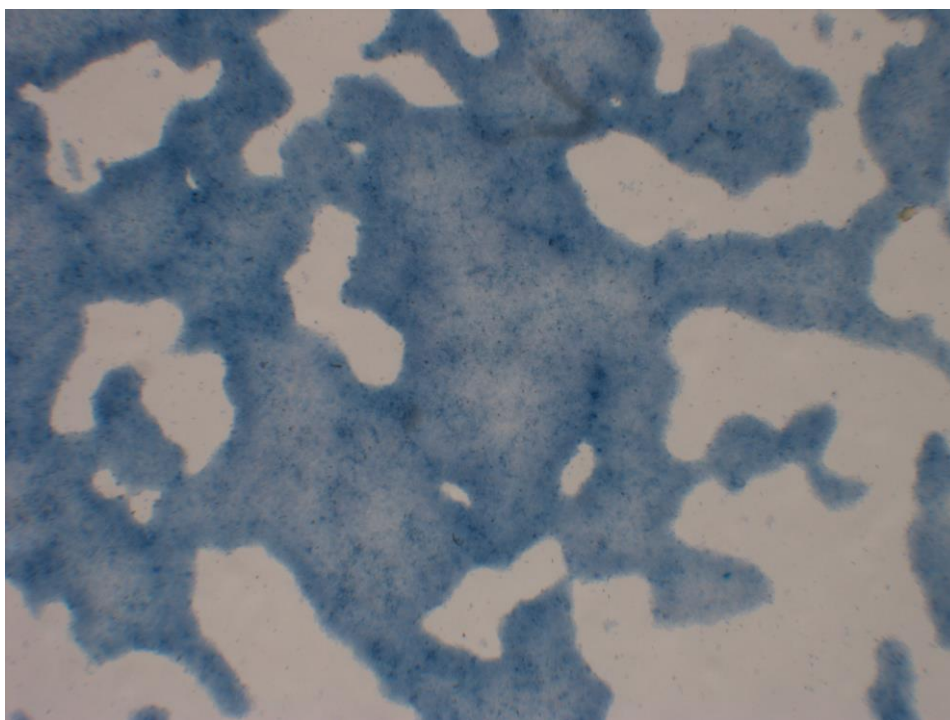
Anexo 6: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

Anexo 7: Genotipado

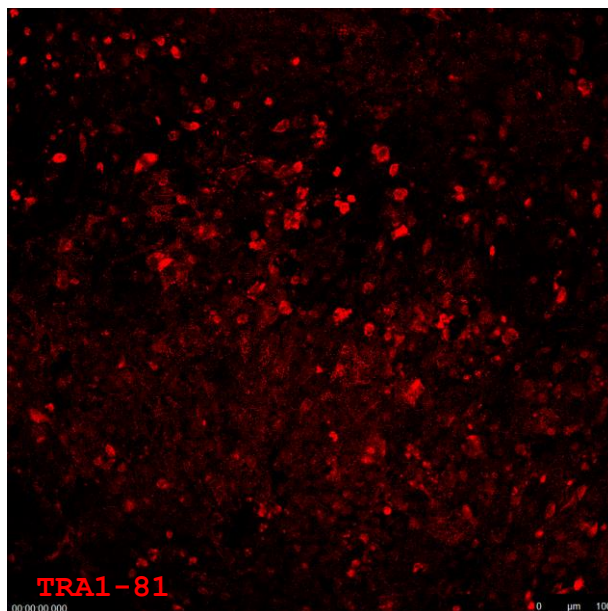
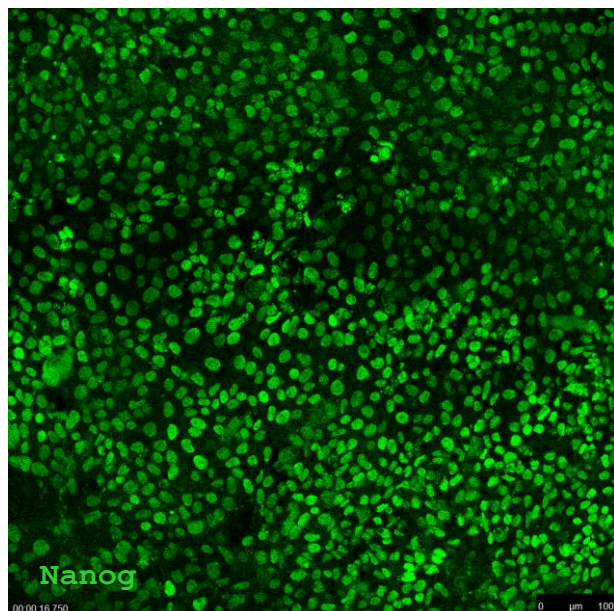
Anexo 8: Resultado test de micoplasma

## **Anexo 1**

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

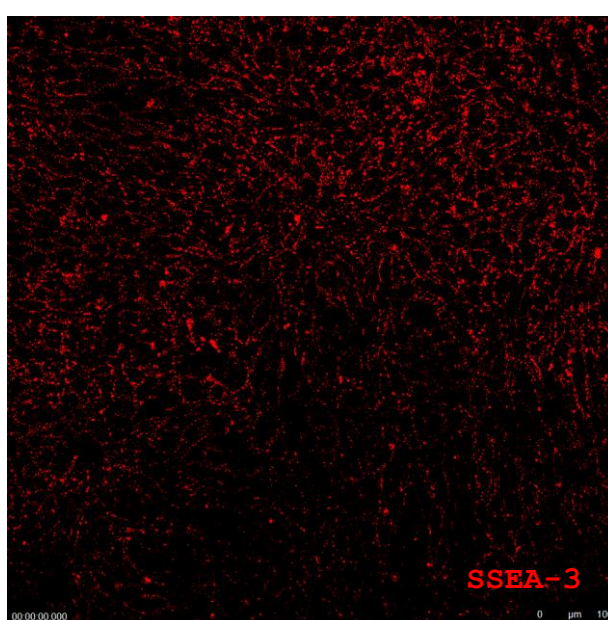
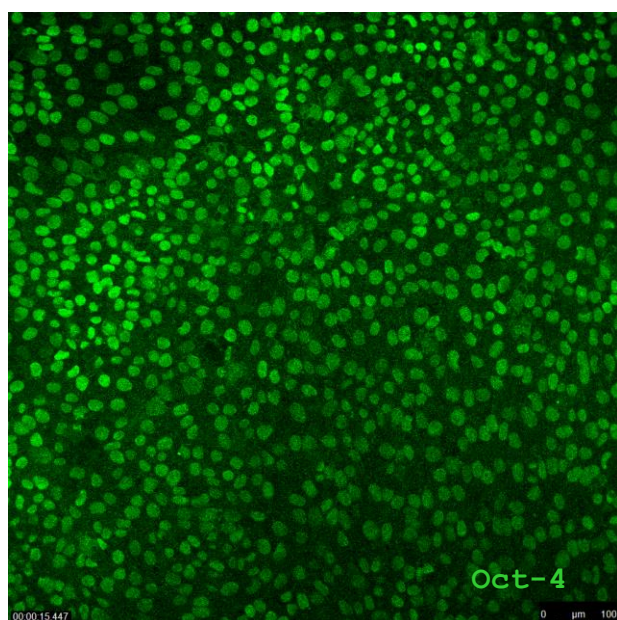


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

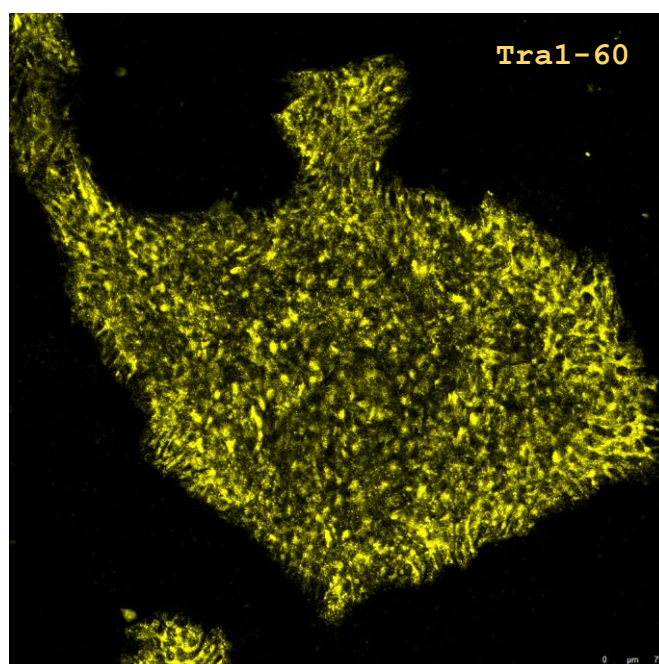
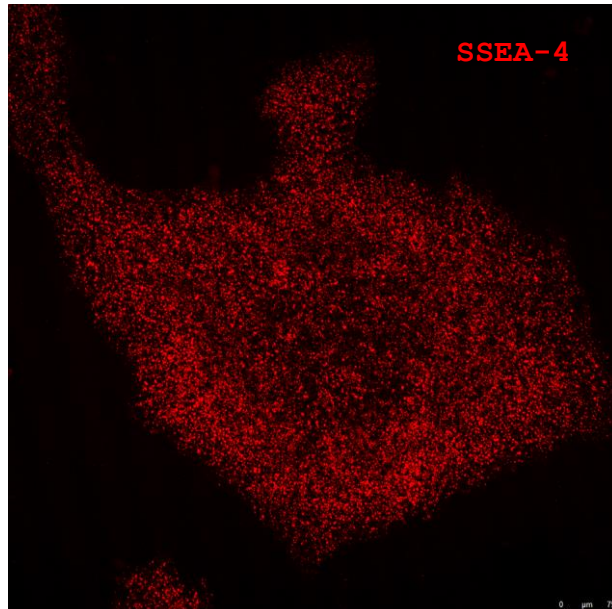
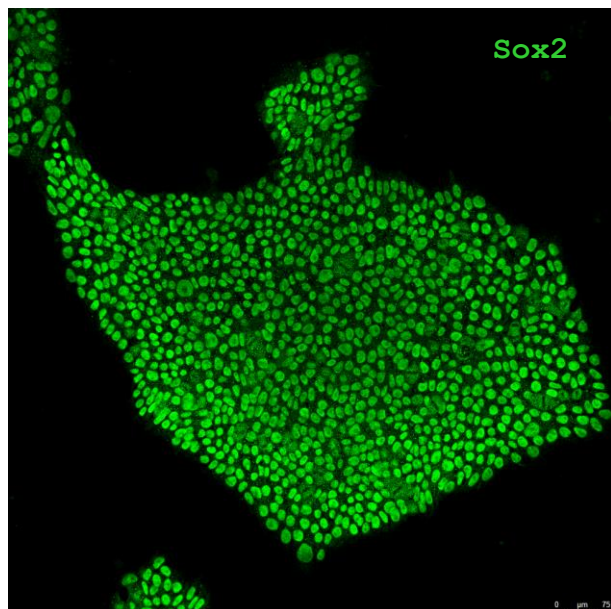
**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**



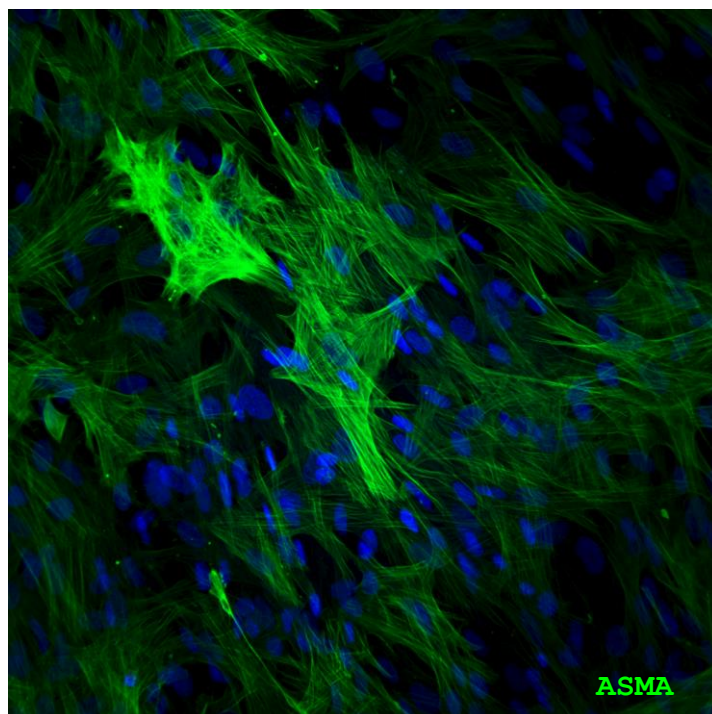


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

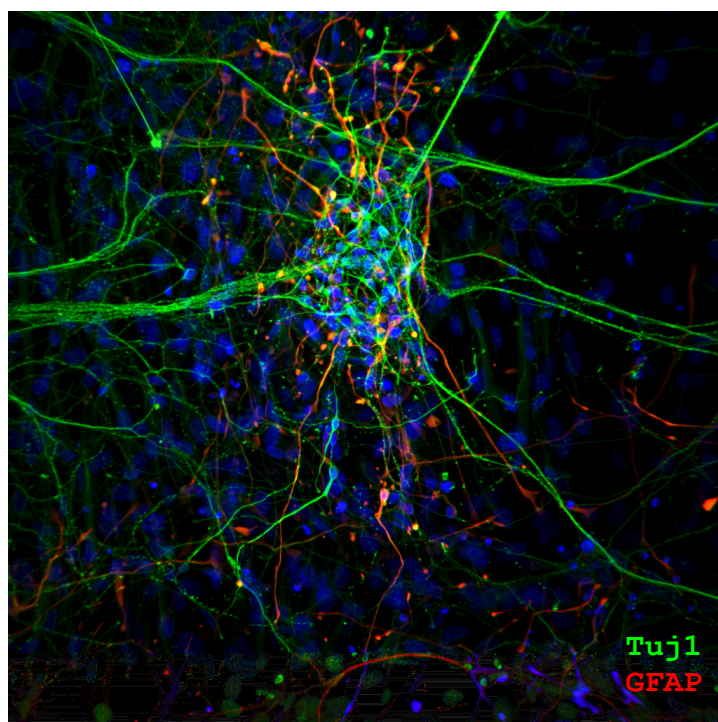
**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

## **Anexo 2**

### **Diferenciación *in vitro***

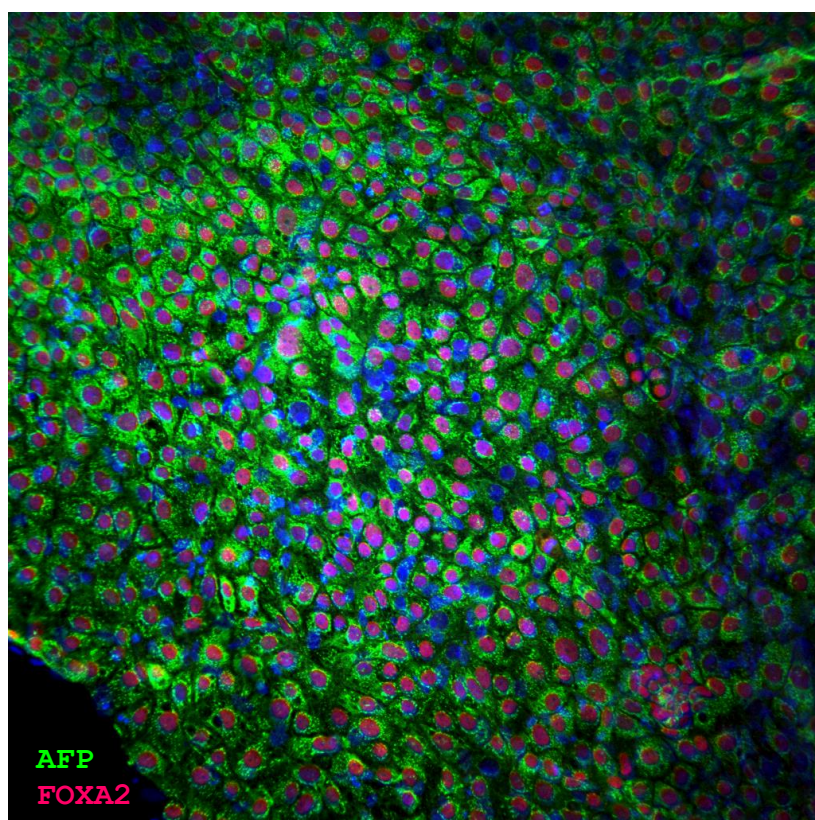


Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA**



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

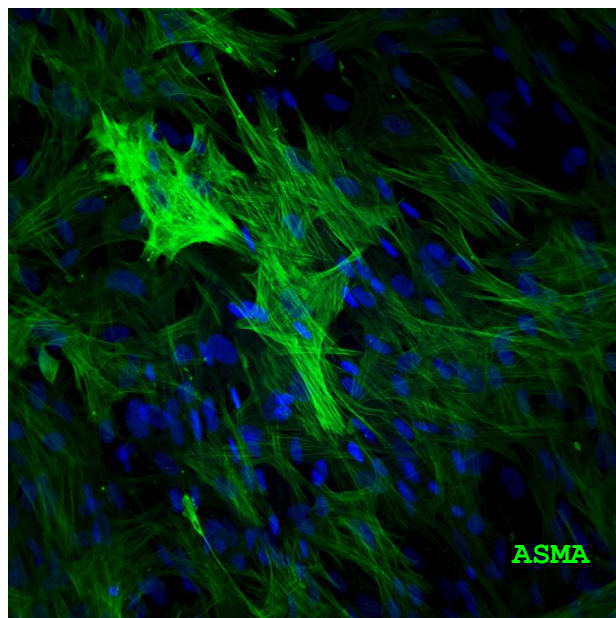




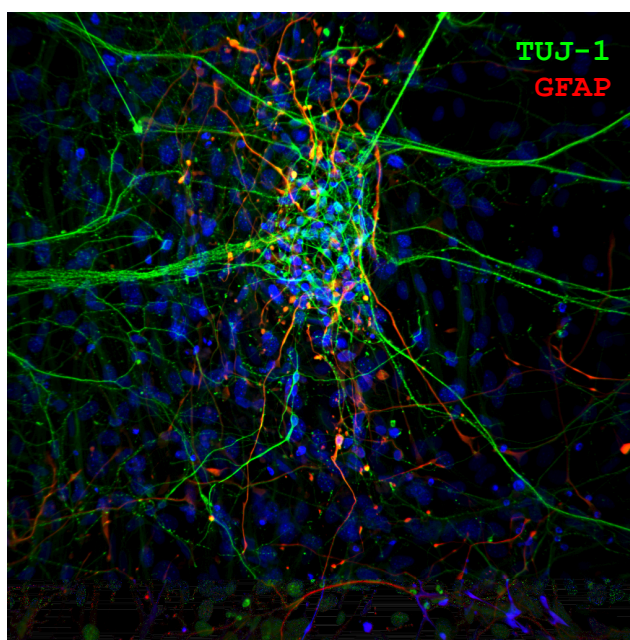
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP y FOXA2**

## **Anexo 3**

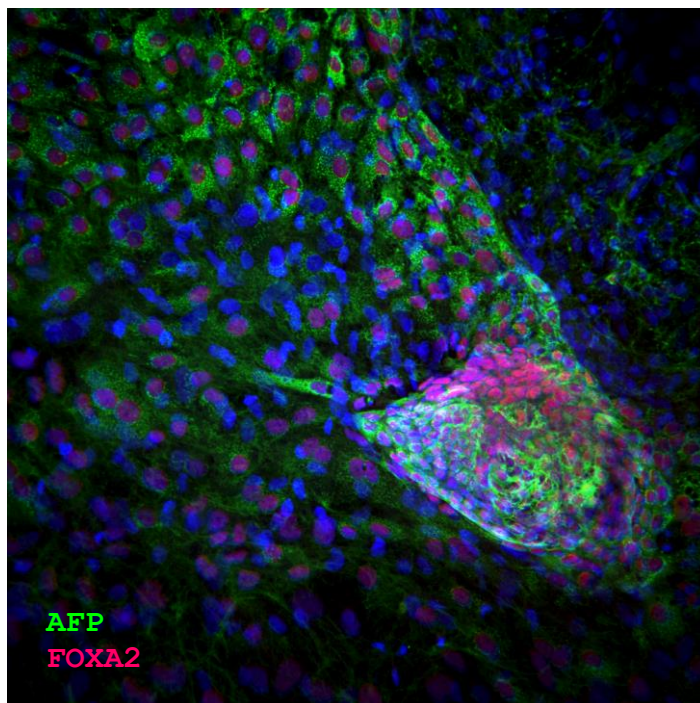
### **Diferenciación *in vivo***



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



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **TUJ1 y GFAP**.



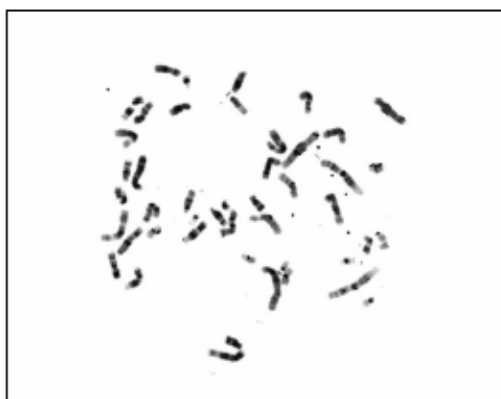
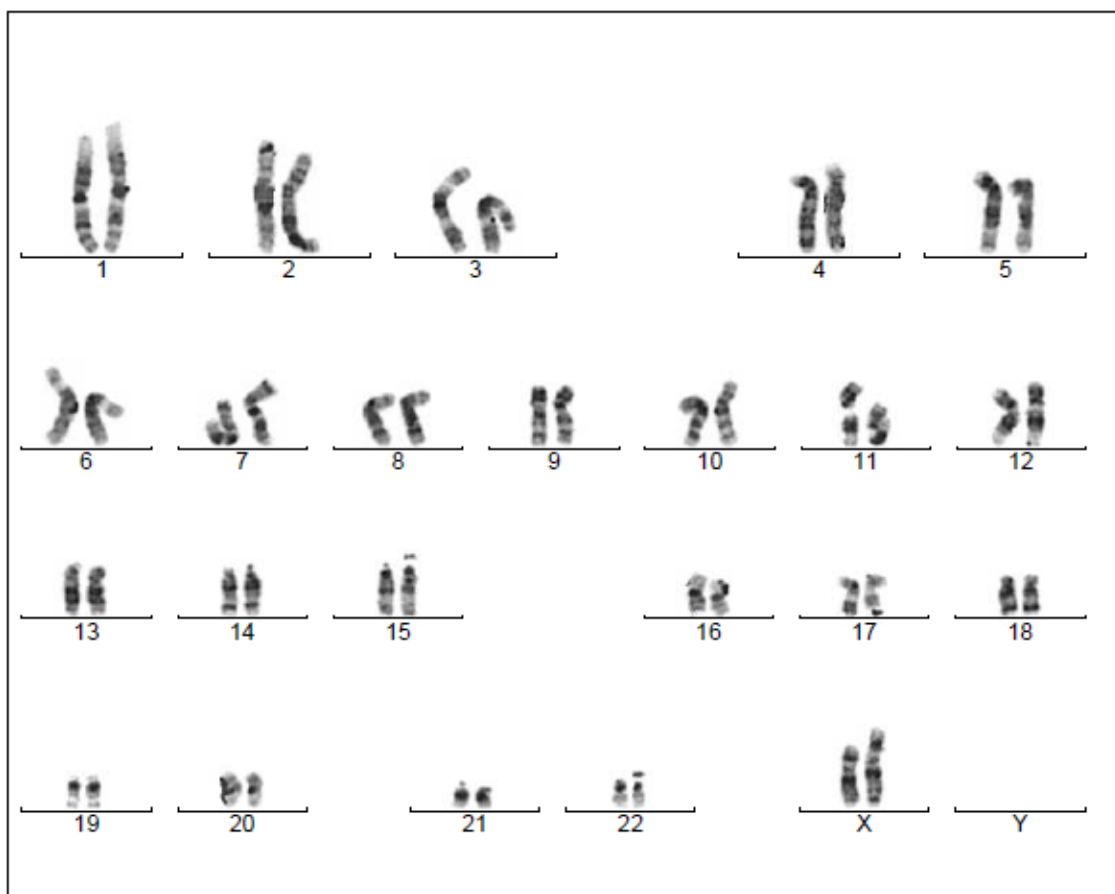
Diferenciación in vivo a endodermo: Células positivas para **AFP y FOXA2**

## **Anexo 4**

### **Cariotipo**



## Cytogenetic analysis



Case name: A161164

Patient name: SWB-FIPS1-R4F-5

Specimen type: stem cells

Result: 46,XX

## **Anexo 5**

### **Resultado microsatélites**



Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía  
CONSEJERÍA DE SALUD

v.03

Table 5. The *GenePrint*® 10 System Allelic Ladder Information.

| STR Locus  | Label | Size Range of Allelic Ladder Components <sup>1,2</sup> (bases) | Repeat Numbers of Allelic Ladder Components                                                                  |
|------------|-------|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TH01       | FL    | 156–195                                                        | 4–9, 9.3, 10–11, 13.3                                                                                        |
| D21S11     | FL    | 203–259                                                        | 24, 24.2, 25, 25.2, 26–28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36–38 |
| D5S818     | JOE   | 119–155                                                        | 7–16                                                                                                         |
| D13S317    | JOE   | 176–208                                                        | 7–15                                                                                                         |
| D7S820     | JOE   | 215–247                                                        | 6–14 <sup>3</sup>                                                                                            |
| D16S539    | JOE   | 264–304                                                        | 5, 8–15                                                                                                      |
| CSF1PO     | JOE   | 321–357                                                        | 6–15                                                                                                         |
| Amelogenin | TMR   | 106, 112                                                       | X, Y                                                                                                         |
| vWA        | TMR   | 123–171                                                        | 10–22                                                                                                        |
| TPOX       | TMR   | 262–290                                                        | 6–13                                                                                                         |

<sup>1</sup>The length of each allele in the allelic ladder has been confirmed by sequence analysis.

<sup>2</sup>When using an internal lane standard, such as the Internal Lane Standard 600, the calculated sizes of allelic ladder components may differ from those listed. This occurs because different sequences in allelic ladder and ILS components may cause differences in migration. The dye label also affects migration of alleles.

<sup>3</sup>HeLa cells have a microvariant allele 13.3 at the D13S317 locus. This will appear as an off-ladder allele (see [www.cstl.nist.gov/strbase/var\\_D13S317.htm#Tri](http://www.cstl.nist.gov/strbase/var_D13S317.htm#Tri)).

Figura 1. Información de la casa comercial Promega sobre la relación entre cada uno de los loci STR amplificados y las repeticiones (en rangos de tamaño y número) que pueden estar presentes en dichos productos de PCR.

## RESULTADOS:

A continuación se detalla la correlación entre el código de muestra de Biobanco y la línea celular procesada:

| código Biobanco | Línea celular       |
|-----------------|---------------------|
| 32151906047     | SWB FiPS1-R4F-5 p60 |

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    |
| SWB FiPS1-R4F-5 p60 | X                   | 11     | 8, 12   | 12, 13  | 28, 29 | 11, 12 | 9, 13  | 6, 9.3 | 8    | 16, 18 |

Granada, a 11 de Diciembre de 2015

Área de Biología Molecular

### Servicio de autenticación de líneas celulares

#### Detalles de la solicitud

**Solicitante:** Cristina Gómez Santos  
**Centro:** Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona  
**Departamento:**

#### Detalles de la muestra

**Identificador externo:** Fibras SW112-01 p3  
**Identificador interno:** qG15013846  
**Descripción:** 1 epp amb pellet

### Informe de resultados

#### Resultados

**Calidad de la muestra:** Correcta

| Muestra            | TH01  | D21S11 | D5S818 | D13S317 | D7S820 | D16S539 | CSF1PO | AMEL | vWA   | TPOX |
|--------------------|-------|--------|--------|---------|--------|---------|--------|------|-------|------|
| Fibras SW112-01 p3 | 6-9,3 | 28-29  | 11-12  | 8-12    | 9-13   | 12-13   | 11-11  | XX   | 16-18 | 8-8  |

**Coincidencia con línea celular conocida:** No Cual:

**Contaminación con otra línea celular humana:** No detectable

**Observaciones:** El patrón de marcadores STR coincide en un 100% con la línea celular SWB FIPS4F-1-1 (qG15013845)

**Firmado:**  
Manel Garcia

**Fecha:** 20/07/2015

Análisis de microsatélites en la línea de células madre pluripotentes [SWB]FiPS1-R4F-5  
y en la línea de fibroblastos de la cual proceden.

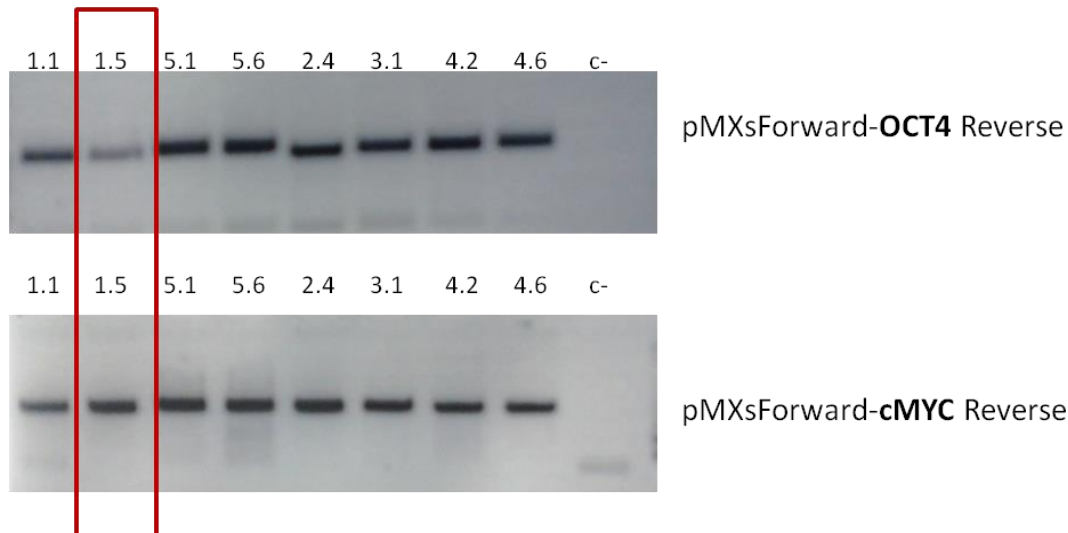
## **Anexo 6**

# **Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación**

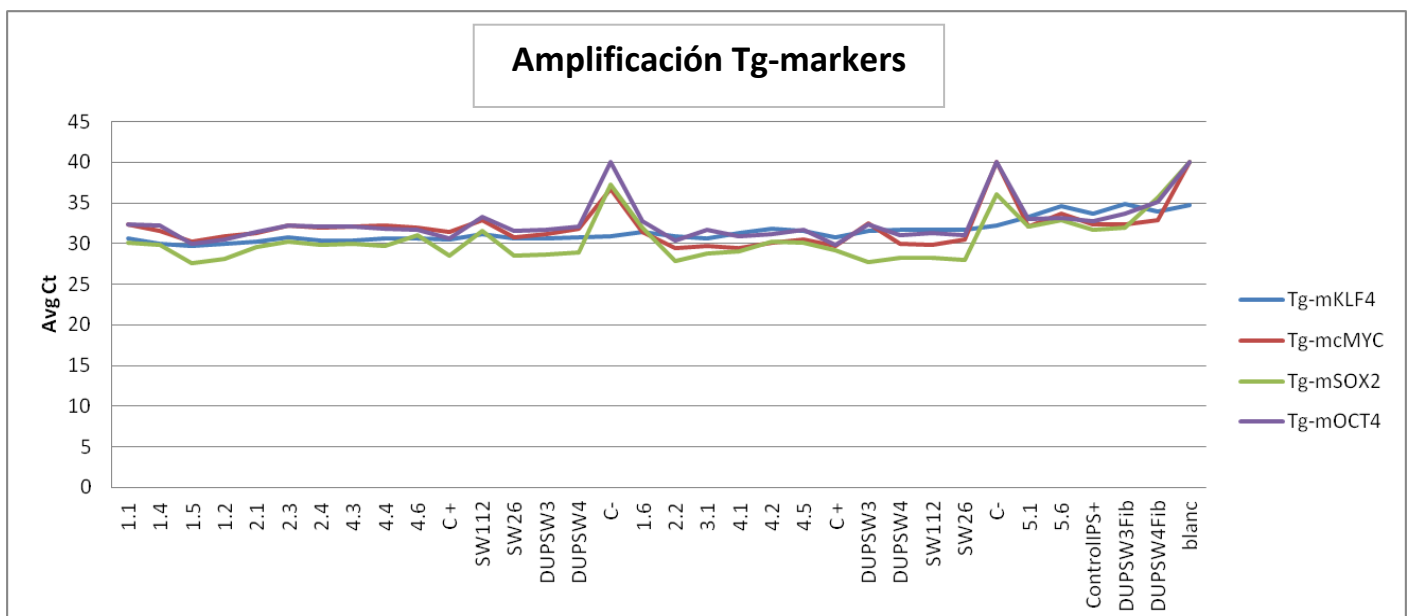


## Integration Study by PCR analysis of genomic DNA

Constructs used (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) & (pMXsKLF4 MYC-GFP)



Análisis PCR mostrando las integraciones genómicas de los genes utilizados Oct-4, Sox-2 y cMYC para generar la línea

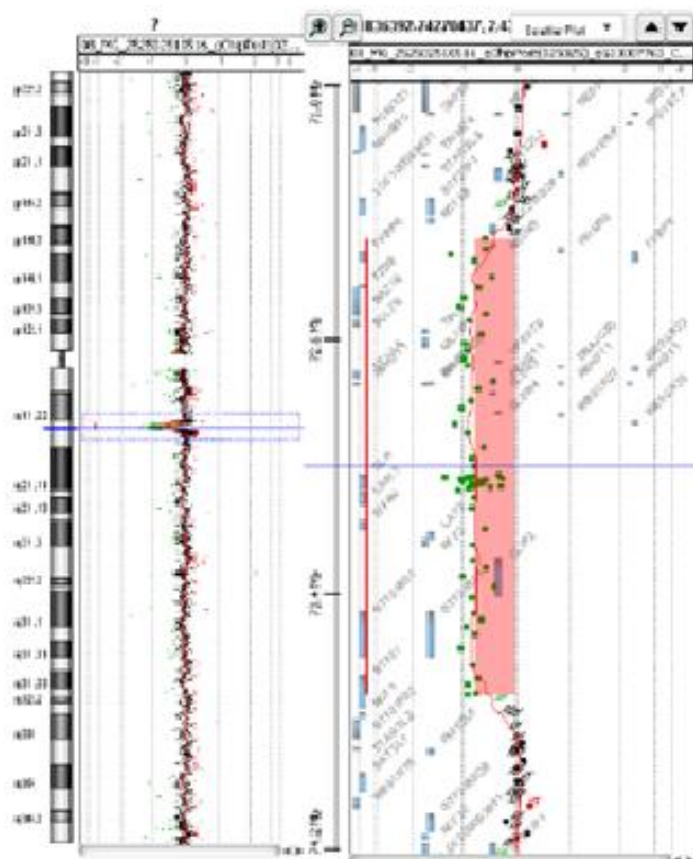


Silenciamiento de los transgenes de reprogramación. Análisis por Q-RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH

## **Anexo 7**

### **Genotipado**

## Genotyping showing the 1.5Mb deletion of 7q11.23 model by CGH array of Clone 1.5



Detalle de la deleción intersticial de 1,5Mb identificada en el presente caso en la banda 7q11.23 que coincide con la microdeleción recurrente de esta banda descrita en la bibliografía como causa del síndrome de Williams-Beuren.

## **Anexo 9**

### **Resultado test de micoplasma**

## MYCOPLASMA TEST

03-11-2015

1

2

3



1. SWB FiPS1-R4F-5 p61

2. CT -

3. CT +