

# **ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR CBiPS-4F-10 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

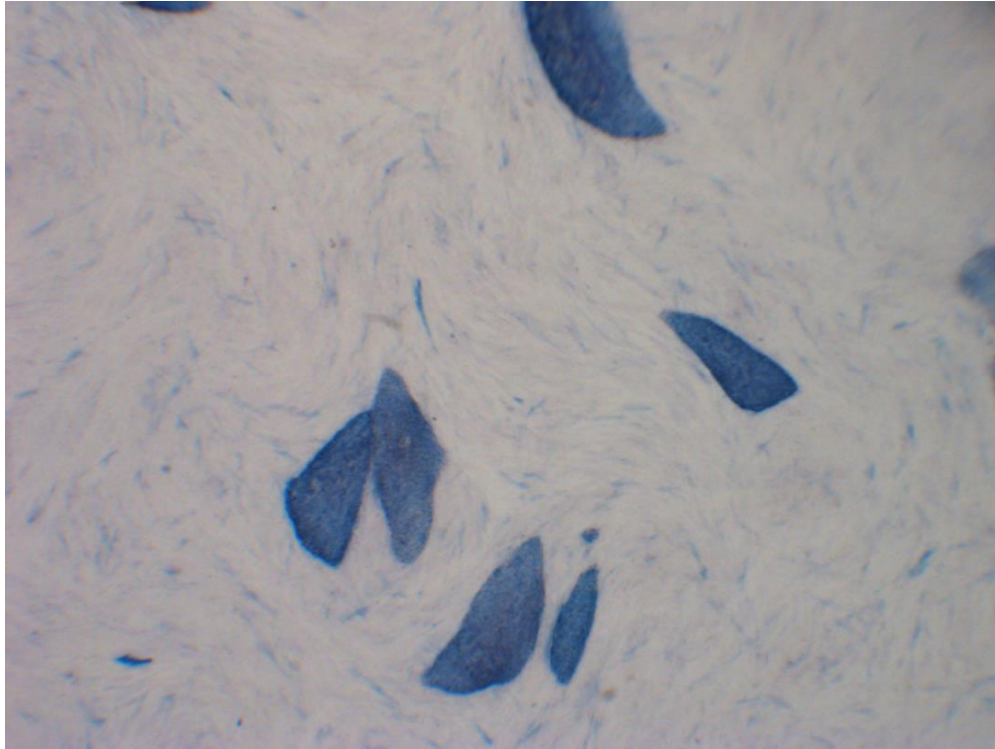
Anexo 5: Resultados microsatélites

Anexo 6: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

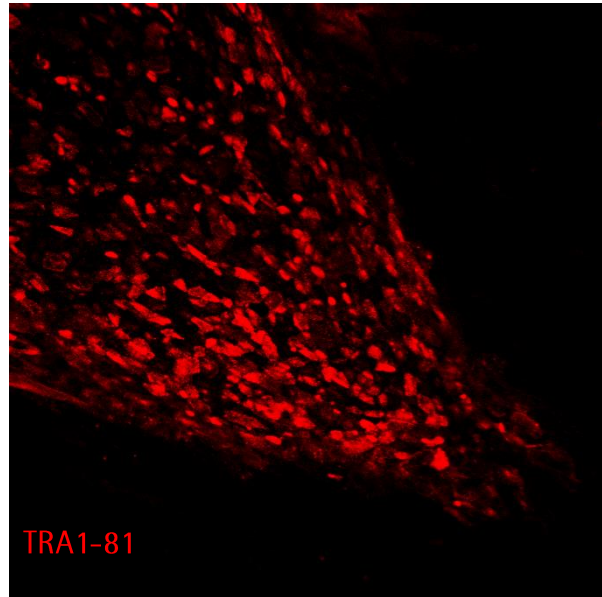
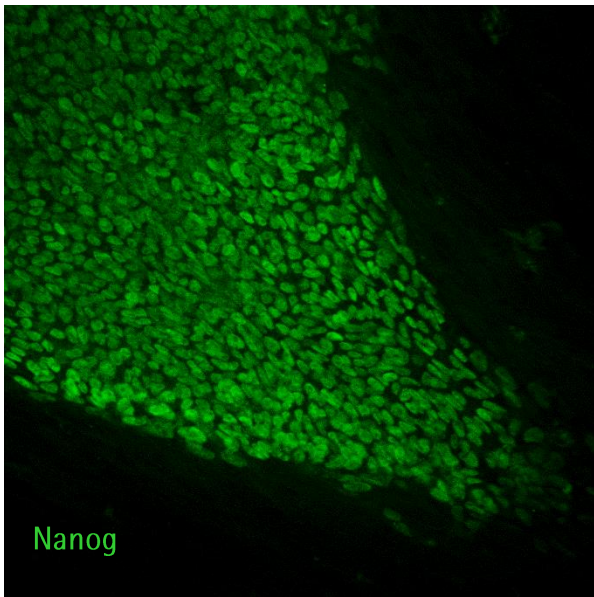
Anexo 7: Test de micoplasma (PCR)

## **Anexo 1**

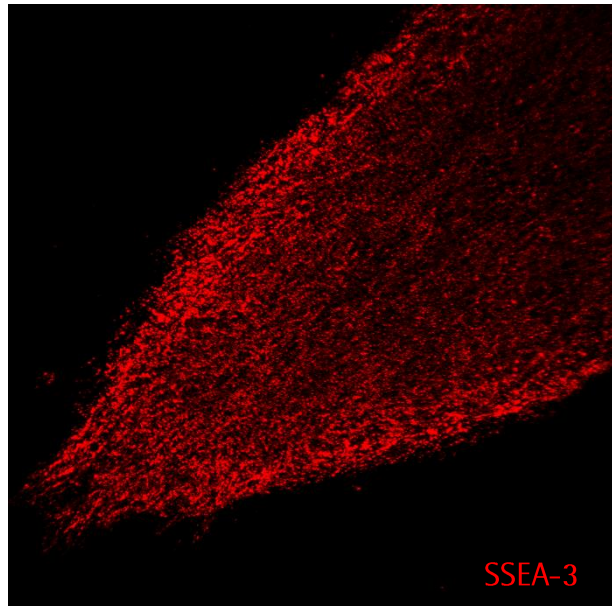
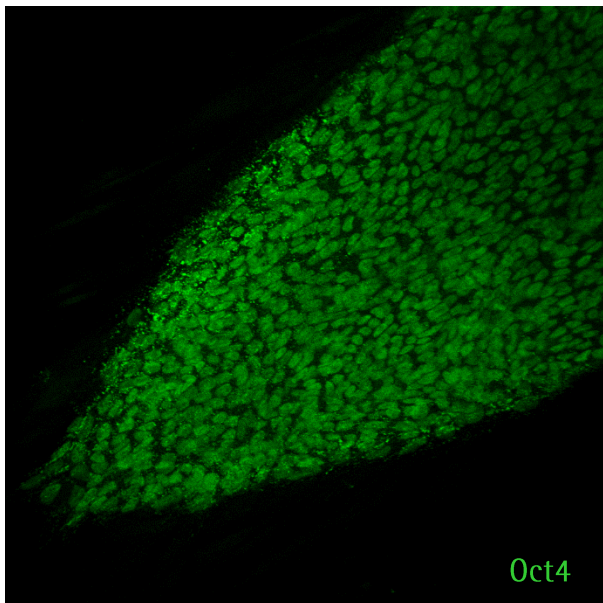
### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**



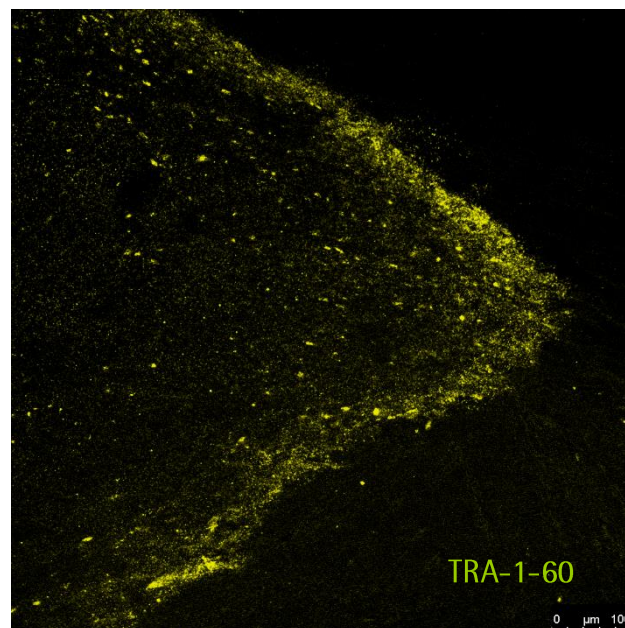
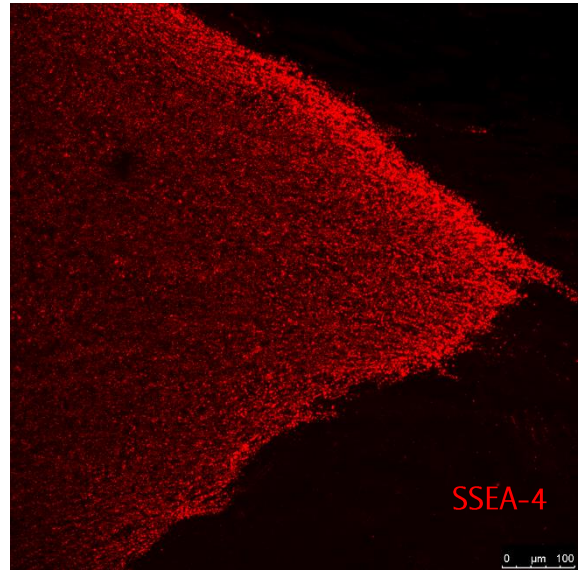
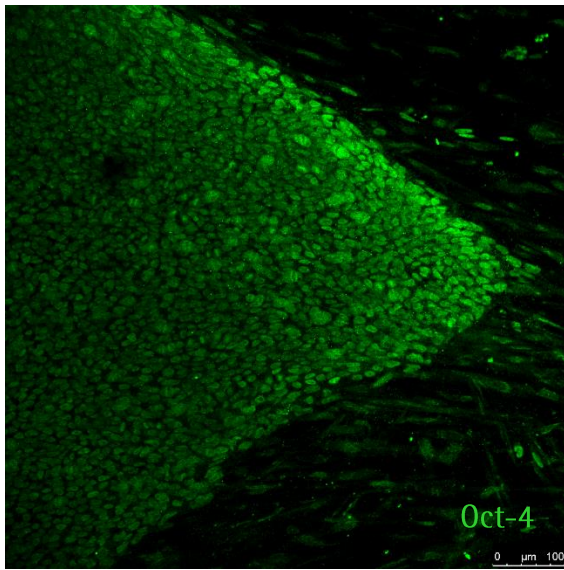
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



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**

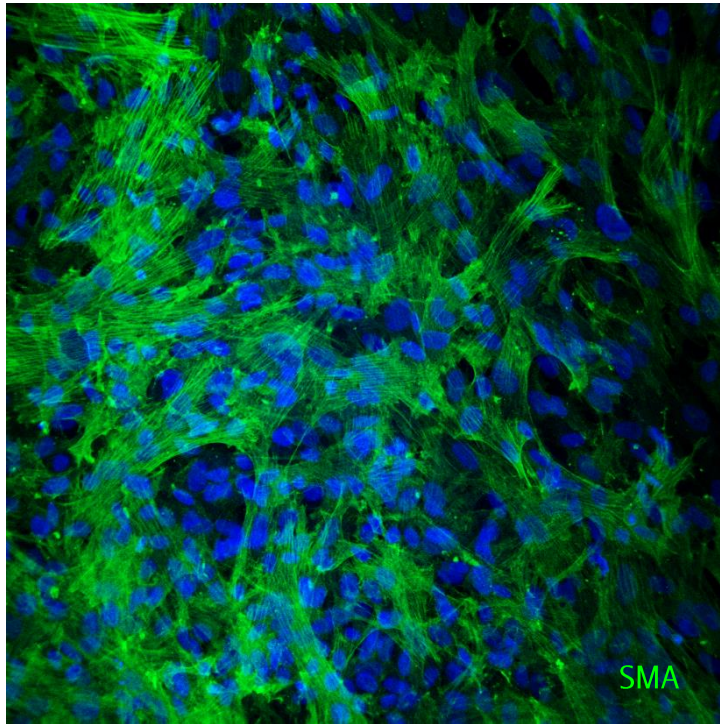


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

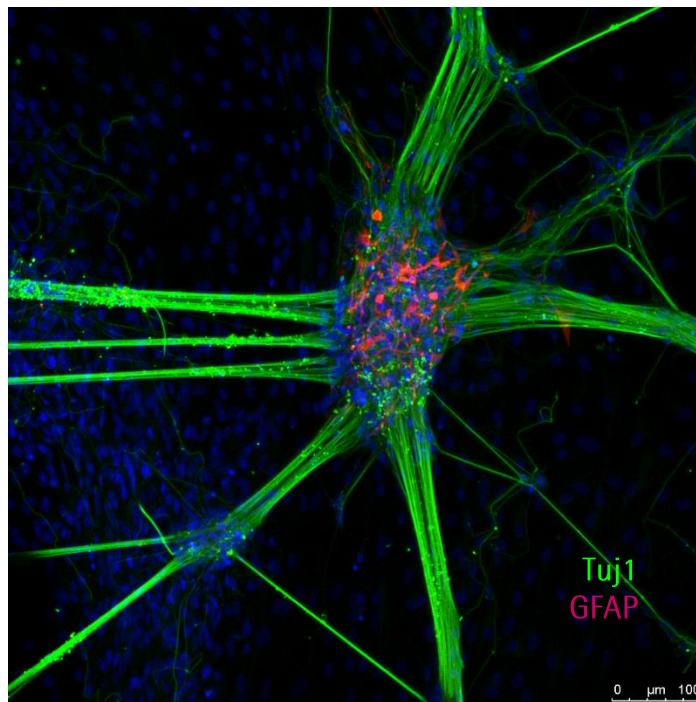
**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

## **Anexo 2**

### **Diferenciación *in vitro***

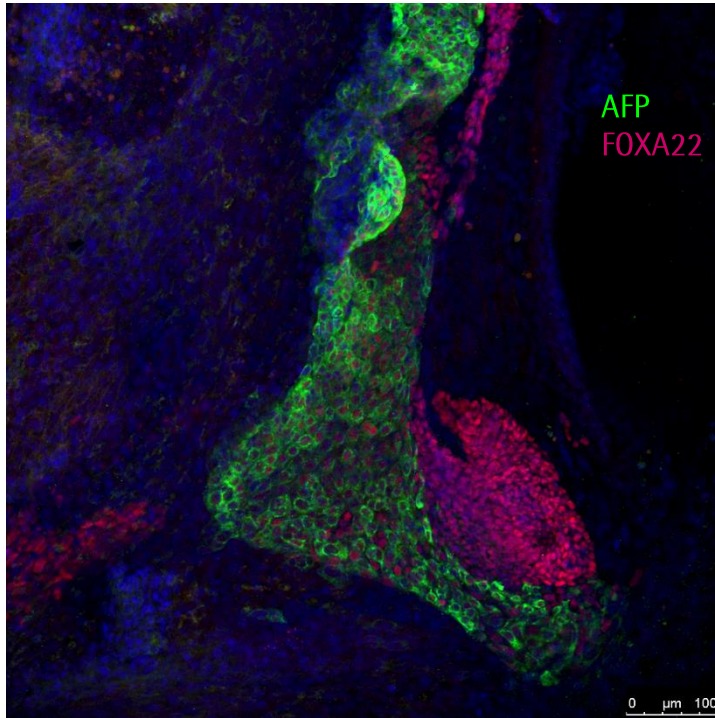


Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **SMA**



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

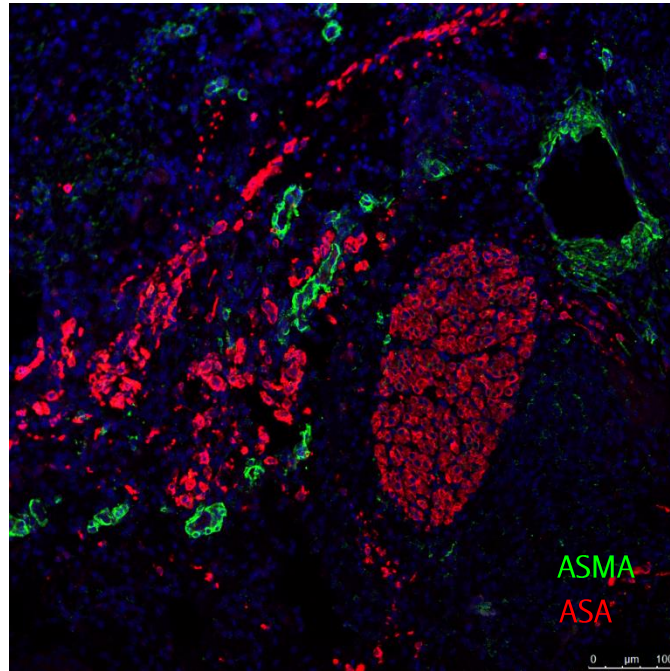




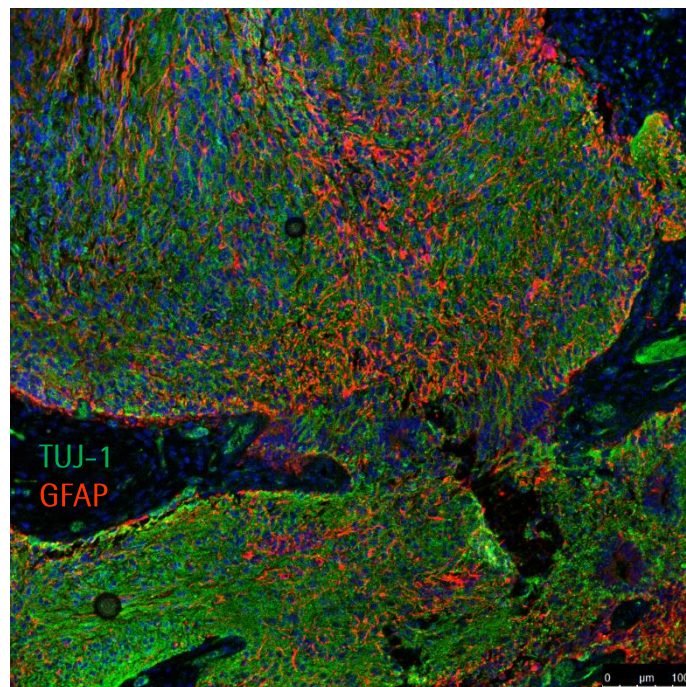
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**

## **Anexo 3**

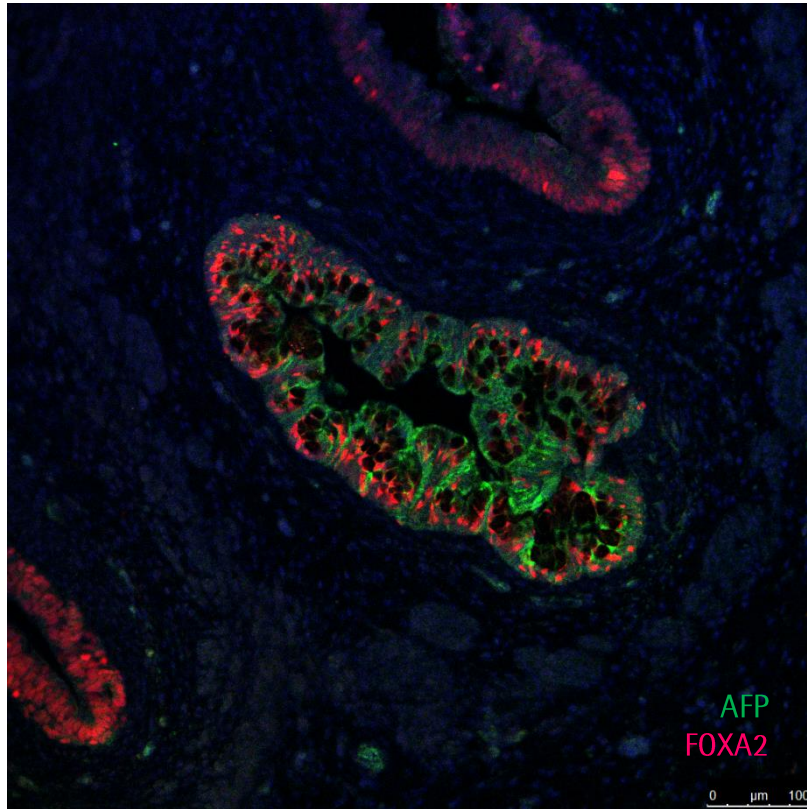
### **Diferenciación *in vivo***



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



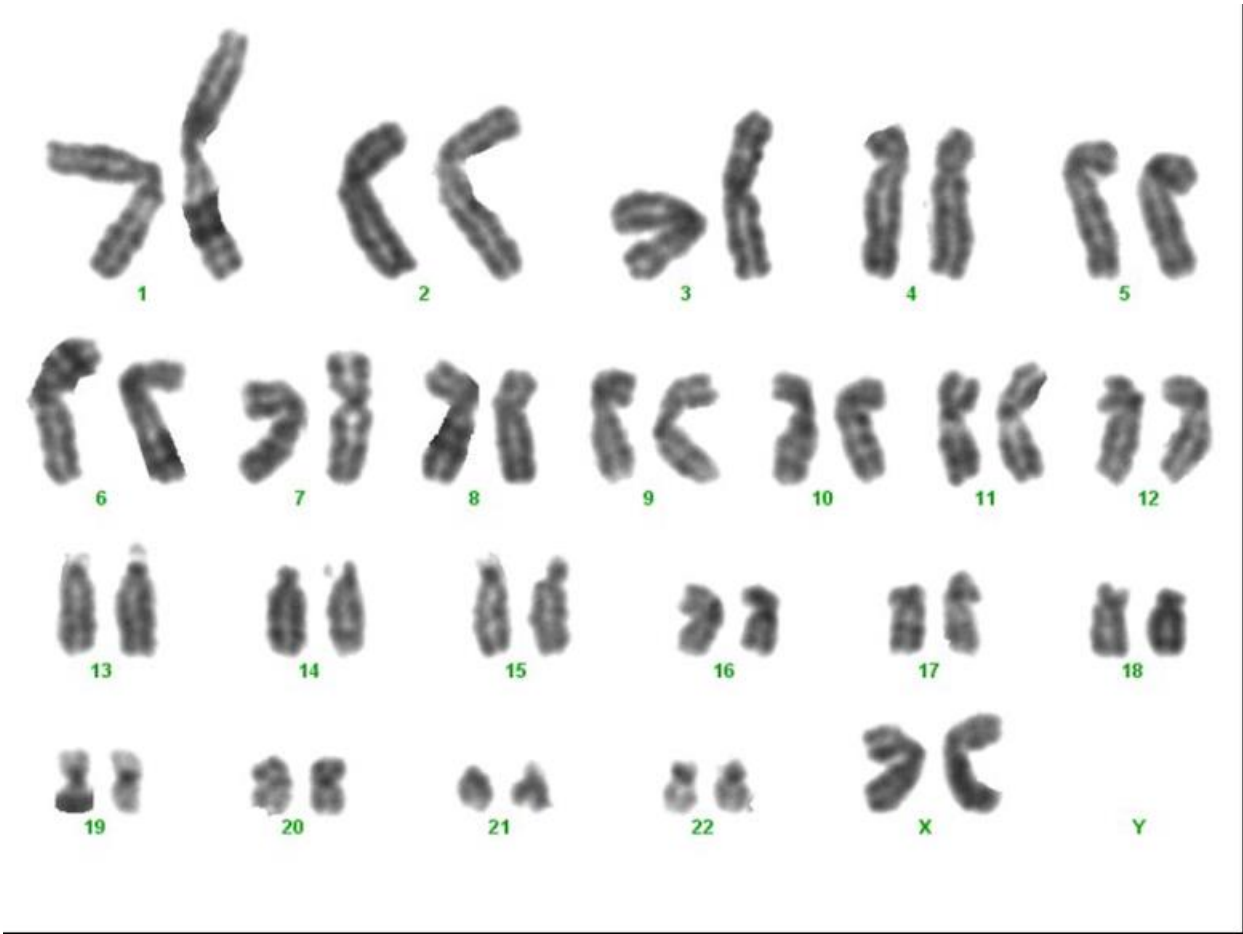
Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **TUJ1** y **GFAP**.



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

## **Anexo 4**

### **Cariotipo**



## **Anexo 5**

### **Resultado análisis de microsatélites**

### 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:** CBiPS 4F-10  
**Identificador interno:** qG15013833  
**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
CBiPS 4F-10	7-9.3	28-32.2	11-12	8-12	11-12	12-13	10-11	XX	15-16	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 CBiPS 2F-1C (qG15013834)

**Firmado:**  
Manel Garcia

**Fecha:** 20/07/2015

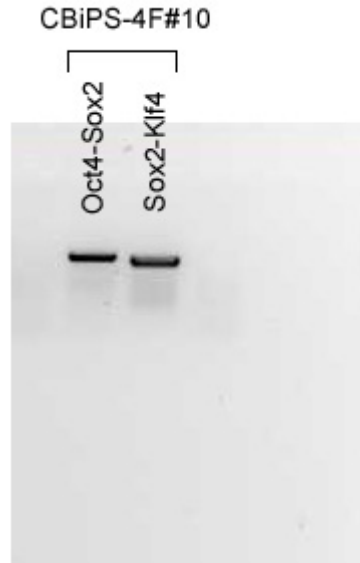
#### Breve descripción del método

El estudio se ha realizado mediante el genotipado de marcadores STR (también conocidos como microsatélites: *TH01*, *D21S11*, *D5S828*, *D13S317*, *D7S820*, *D16S539*, *CSF1PO*, *vWA* y *TPOX*). La combinación de los nueve marcadores utilizados produce un perfil de alelos con una probabilidad de coincidencia por azar de 1 en  $2,9 \times 10^9$ . Se usa además un marcador para identificar el sexo de la muestra (*AMEL*).

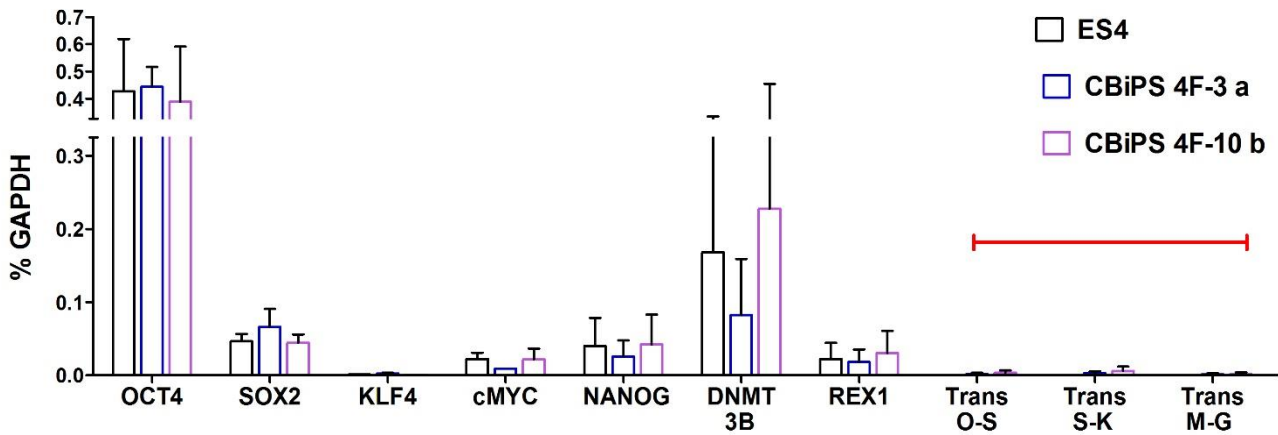


**Anexo 6**

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



Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los 4 genes utilizados Oct-4, Sox-2, Klf4 y c-Myc) para generar la línea CBiPS-4F-10 (el vector utilizado fue el policistrónico pMXs-OSKMG con los 4 genes: Oct4, Sox2, Klf4, cMyc)

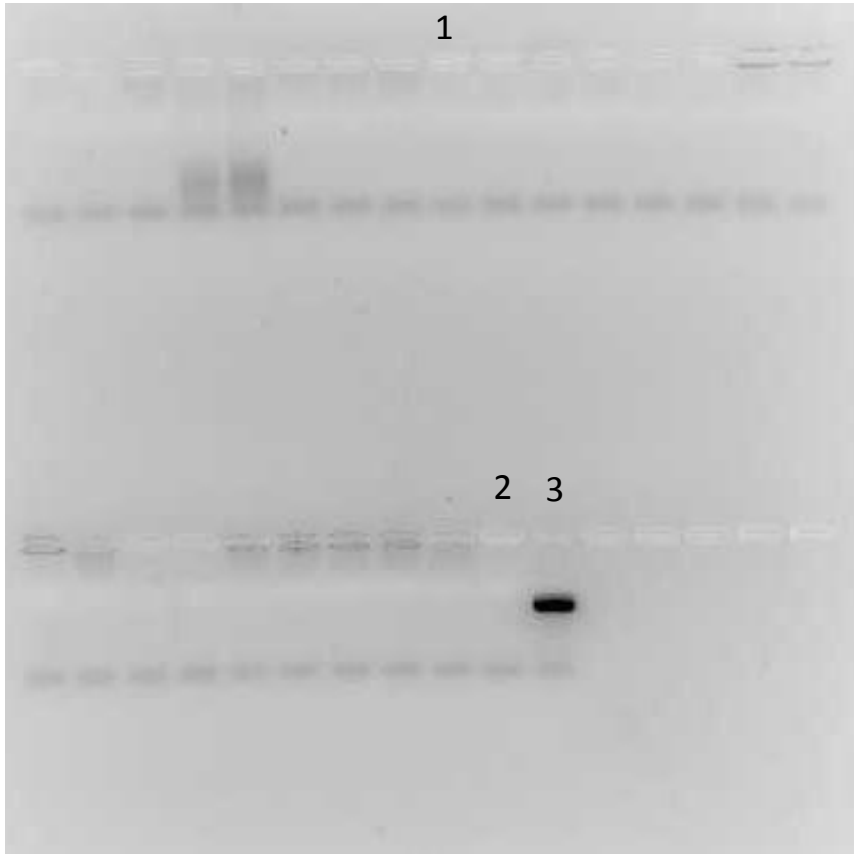


Silenciamiento de los transgenes de reprogramación. Análisis por Q-RT-PCR de los niveles de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH

## **Anexo 7**

### **Resultado Test de micoplasma (PCR)**

## MYCOPLASMA TEST



- 1. CBiPS 4F-10b
- 2. CT -
- 3. CT +