

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE
LA LÍNEA CELULAR **MOA1-FiPS4F#7** EN EL
BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

*ANNEXES TO THE APPLICATION FORM FOR
DEPOSITING **MOA1-FiPS4F#7** CELL LINE
INTO THE NATIONAL BANK OF STEM CELL
LINES*

ANEXOS/ANNEXES

Anexo 1: Test de pluripotencia de la línea [MOA1-FiPS4F#7](#)

Annex 1: Pluripotency Test

Anexo 2: Test de diferenciación *in vitro* de la línea [MOA1-FiPS4F#7](#)

Annex 2: In vitro differentiation Test

Anexo 3: Cariotipo de la línea [MOA1-FiPS4F#7](#)

Annex 3: Karyotype

Anexo 4: Huella genética de la línea [MOA1-FiPS4F#7](#)

Annex 4: Genetic fingerprinting

Anexo 5: Test de silenciamiento de la línea [MOA1-FiPS4F#7](#)

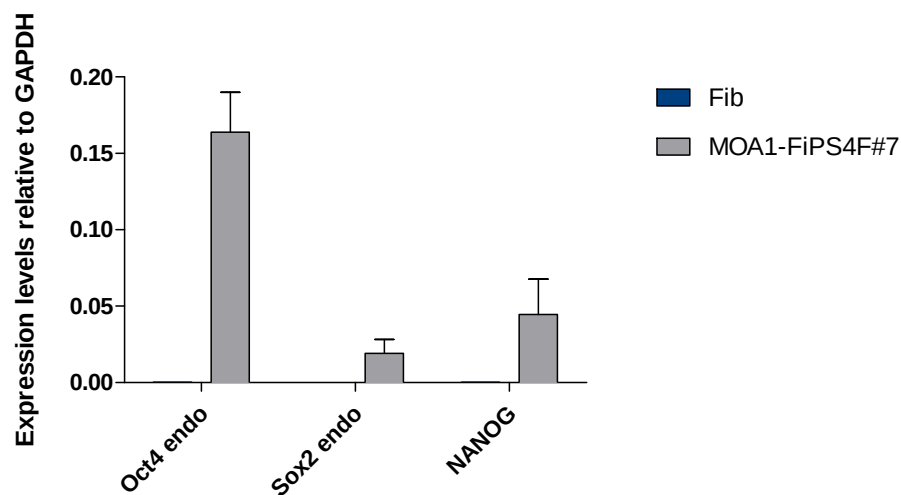
Annex 5: Silencing Test

Anexo 6: Test de micoplasma de la línea [MOA1-FiPS4F#7](#)

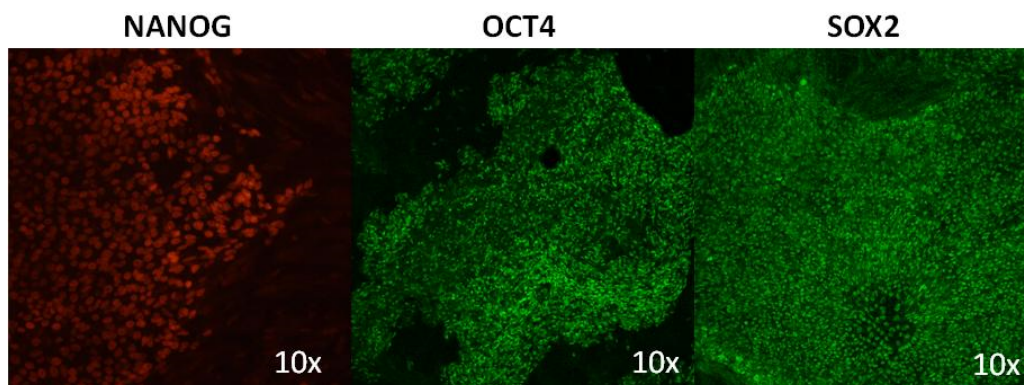
Annex 6: Mycoplasma Test

Anexo 1: Test de pluripotencia de la línea MOA1-FiPS4F#7

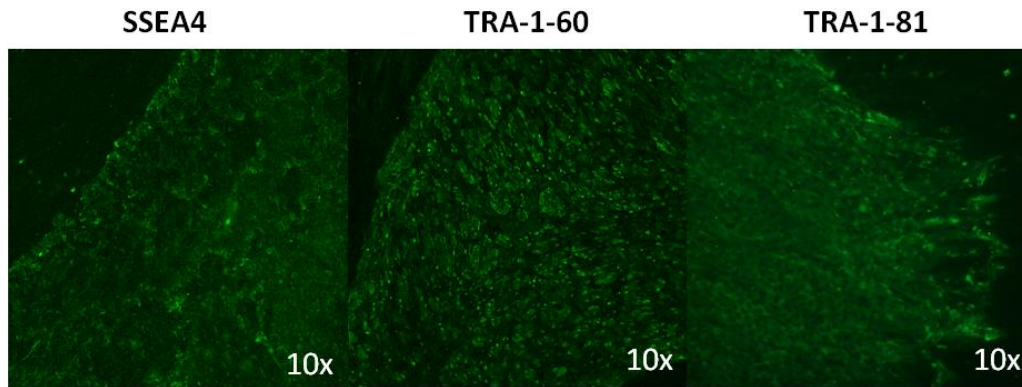
Annex 1: Pluripotency Test



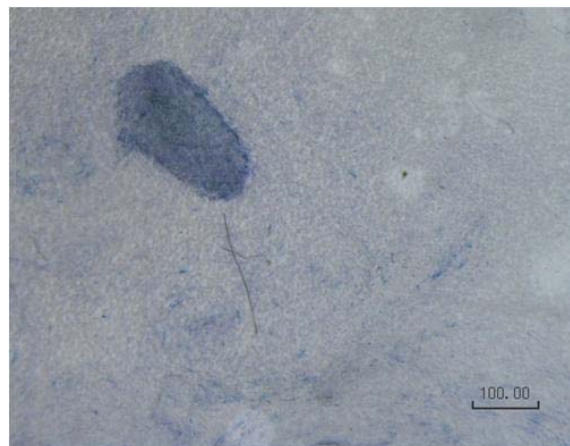
Niveles endógenos de expresión de OCT4, SOX2 y NANOG de la línea MOA1-FiPS4F#7. *Endogenous expression levels of OCT4, SOX2 and NANOG.*



Detección por inmunofluorescencia de la expresión de Oct4, Sox2 y NANOG en la línea MOA1-FiPS4F#7. *Immunofluorescence detection of Oct4, Sox2 and NANOG expression.*



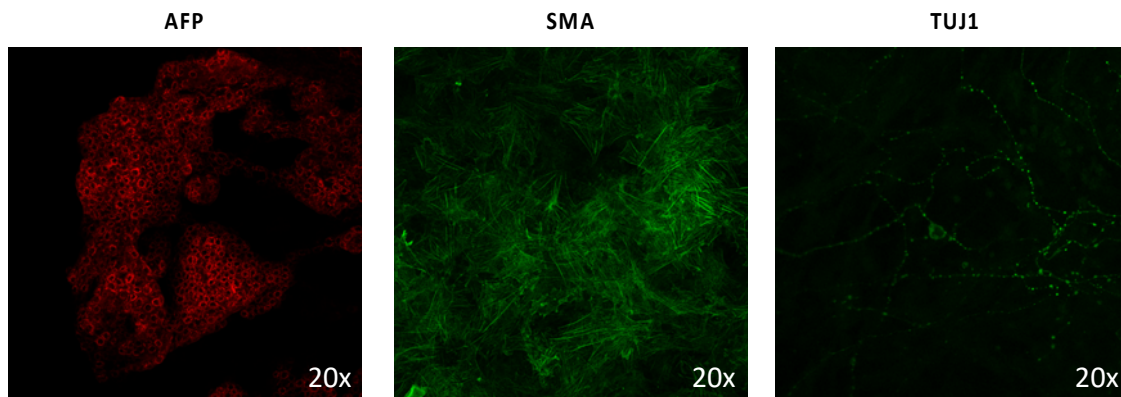
Detección por inmunofluorescencia de la expresión de SSEA-4, TRA-1-60 y TRA-1-81 en la línea [N1-FiPS4F#7](#). *Immunofluorescence detection of SSEA-4, TRA-1-60 and TRA-1-81 expression.*



Detección de la actividad fosfatasa alcalina en la línea [MOA1-FiPS4F#7](#) mediante el kit *alkaline phosphatase blue membrane substrate solution kit* (AB0300; Sigma-Aldrich Química S.A). *Detection of alkaline phosphatase activity.*

Anexo 2: Test de diferenciación *in vitro* de la línea MOA1-FiPS4F#7

Annex 2: In vitro differentiation Test



Diferenciación *in vitro* hacia endodermo (alfa-Fetoproteína, AFP), mesodermo (actina de músculo liso, SMA) y ectodermo (beta-Tubulina III, TUJ1) de la línea MOA1-FiPS4F#7. Células positivas para AFP, SMA y TUJ1.

In vitro differentiation towards endoderm (alpha, Fetoprotein, AFP), mesoderm (smooth muscle actin, SMA) and ectoderm (beta-Tubulin III, TUJ1). AFP, SMA and TUJ1 positive cells.

Anexo 3: Cariotipo de la línea MOA1-FiPS4F#7

Annex 3: Karyotype

Informe independiente elaborado por el servicio KaryoStat™ de ThermoFisher Scientific.

1. El análisis reveló que la línea MOA1-FiPS4F#7 se originó de una mujer.
KaryoStat™ analysis revealed MOA1-FiPS4F#7 originated from a female individual.
2. El cariotipo es normal.
Karyotype is normal.

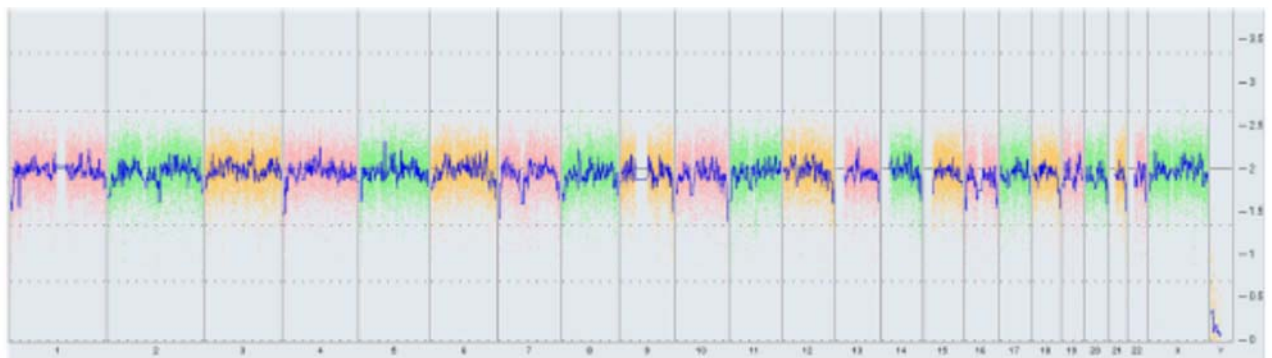


Figure 4: Whole genome view. The whole genome view displays all somatic and sex chromosomes in one frame with high level copy number. The smooth signal plot (right y-axis) is the smoothing of the log2 ratios which depict the signal intensities of probes on the microarray. A value of 2 represents a normal copy number state (CN = 2). A value of 3 represents chromosomal gain (CN = 3). A value of 1 represents a chromosomal loss (CN = 1). The pink, green and yellow colors indicate the raw signal for each individual chromosome probe, while the blue signal represents the normalized probe signal which is used to identify copy number and aberrations (if any).

Anexo 4: Huella genética de la línea MOA1-FiPS4F#7

Annex 4: Genetic fingerprint

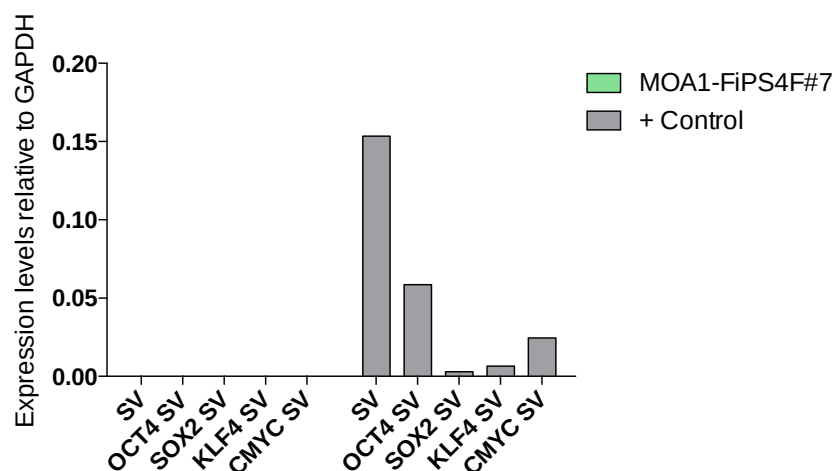
Informe independiente elaborado por la plataforma de genómica del Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Madrid.

Independent report elaborated by the genomic service at Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Madrid.

FOR-SQP-27: RESULTADOS AUTENTIFICACION LINEAS CELULARES HUMANAS. Rev 00. Fecha: 20.02.2013														
NOMBRE	FECHA	RUN	MICROS											COINCIDENCIA
MUESTRA			<i>M. musculus</i>	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	VWA	TH01	AMEL	TPOX	CSF	D21S11	C/NC
FIBROBLASTOS			Negativo	12	12,14	10,13	9,12	16	9,3,10	X	8	11,12	30	
MOA1-FiPS4F#7	14/11/18	M188	*****	12	12,14	10,13	9,12	16	9,3,10	X	8	11,12	30	C
COINCIDENCIA	C													
NO COINCIDENCIA	NC													
MEZCLA DE LÍNEAS	MEZCLA													
RATON/CONTAMINATON	RATON													

Anexo 5: Test de silenciamiento de la línea MOA1-FiPS4F#7

Annex 5: Silencing Test

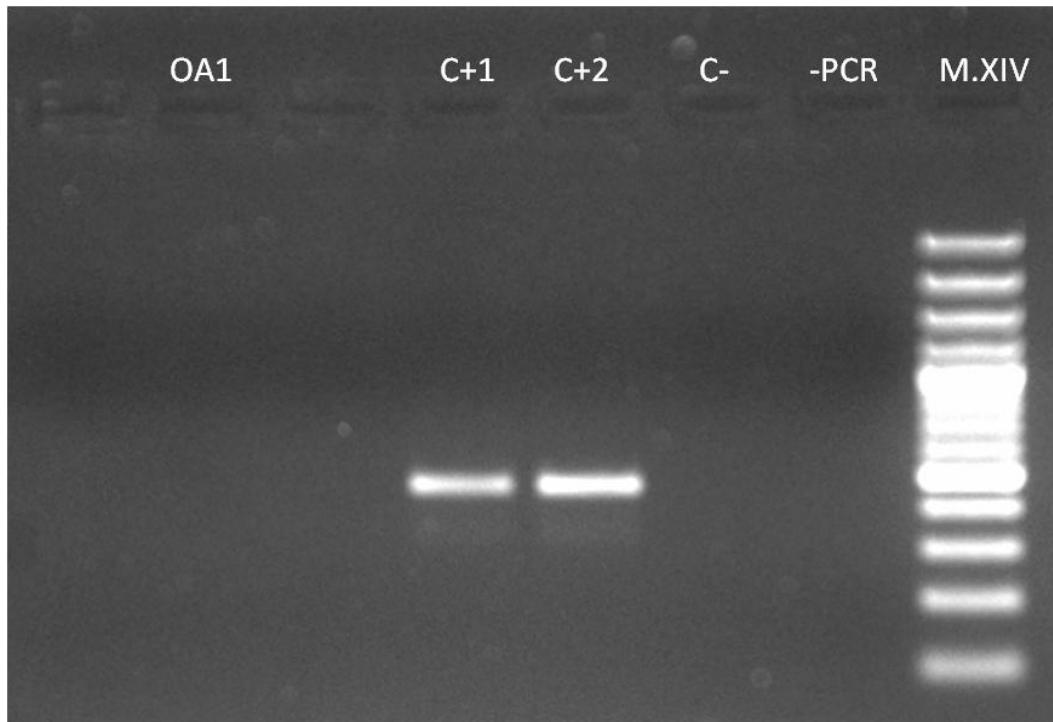


Comprobación del silenciamiento de la línea MOA1-FiPS4F#7 mediante *qRT-PCR* empleando los cebadores proporcionados por el kit de reprogramación *Cytotune*. Como control positivo (+ control) se emplearon fibroblastos recién infectados con los vectores derivados del virus Sendai.

Silencing test checked by using qRT-PCR and primers provided by the Cytotune kit. Immediately infected fibroblasts with Sendai virus-derived vectors were employed as positive control (+ Control).

Anexo 6: Test de micoplasma de la línea MOA1-FiPS4F#7.

Annex 6: Mycoplasma Test



- M.XIV = Marcador/*Marker*
- OA1 = MOA1-FiPS4F#7
- C+1 y C+2 = controles positivos de micoplasma/ *positive controls*
- C-= control negativo de micoplasma/ *negative control*
- - PCR = control negativo de la PCR/ *PCR negative control*