



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR **SPG FiPS2-Ep6F-8** 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

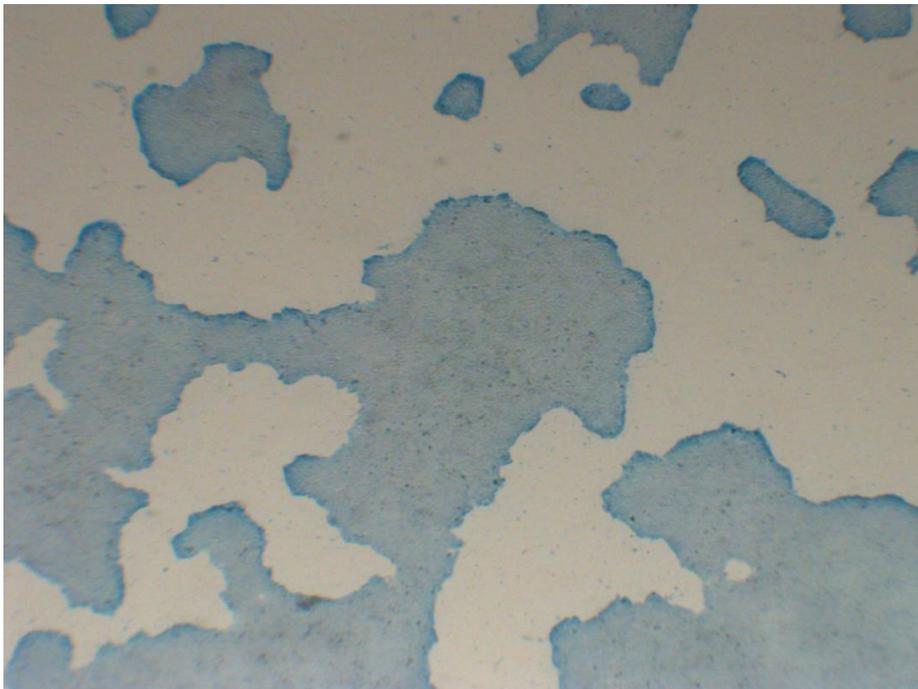
Anexo 6: Comprobación de la presencia de la mutación

Anexo 7: Resultado test de micoplasma

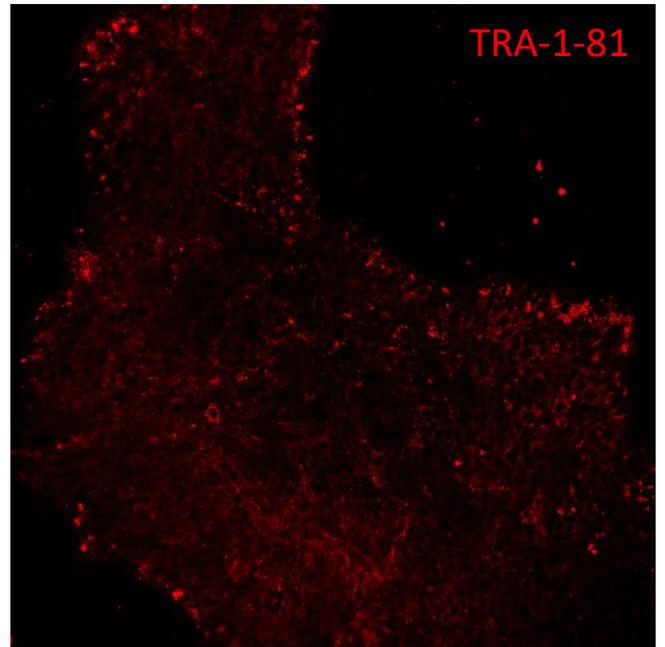
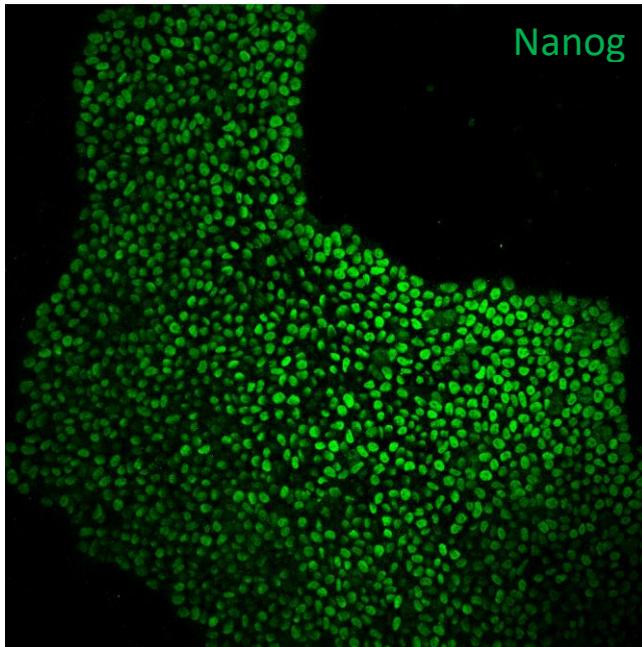


## **Anexo 1**

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

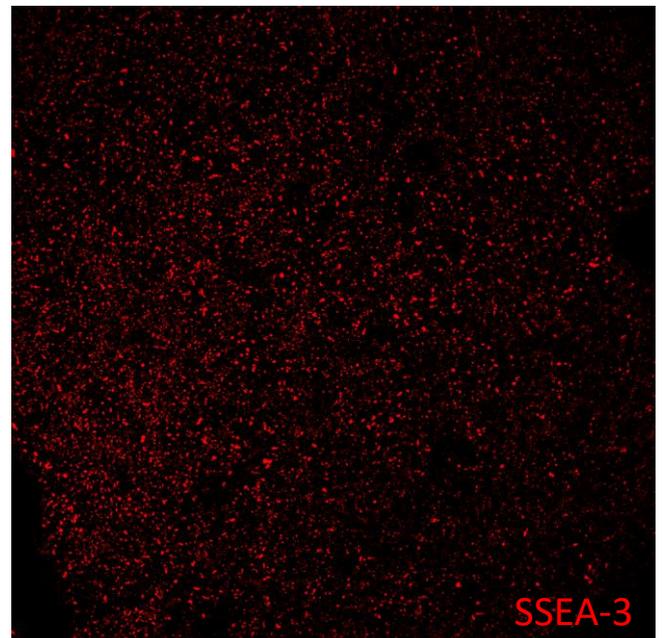
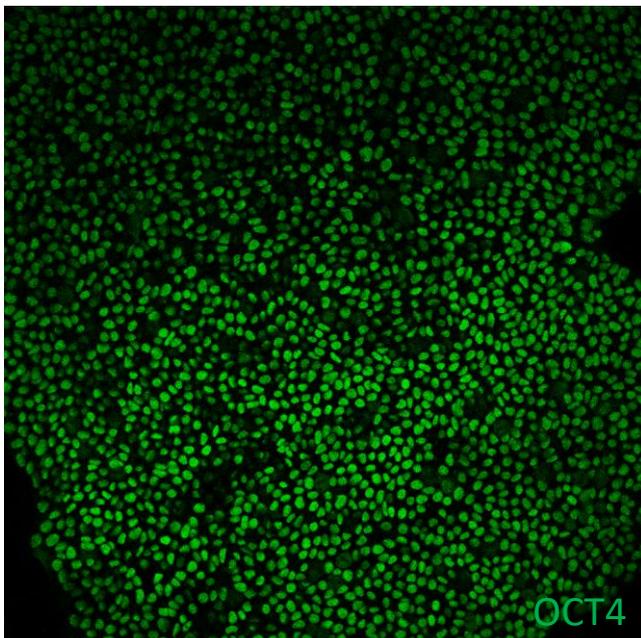


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



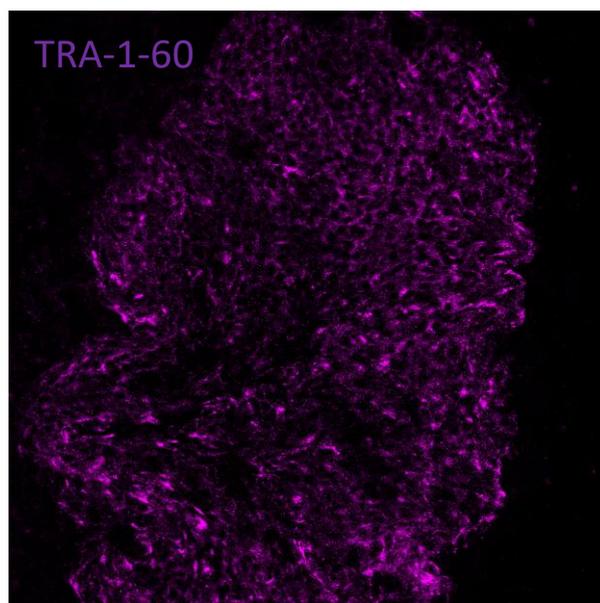
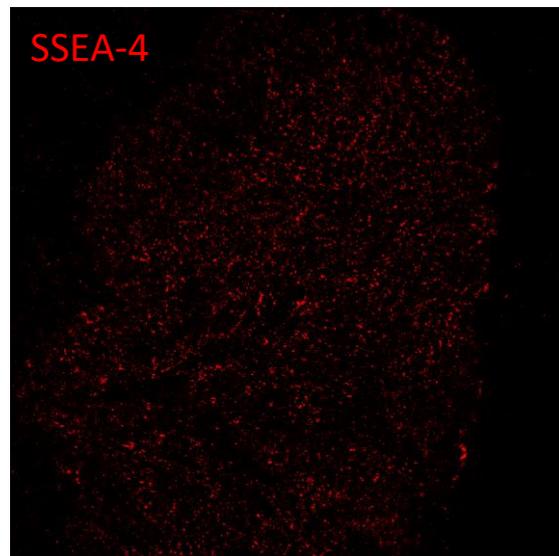
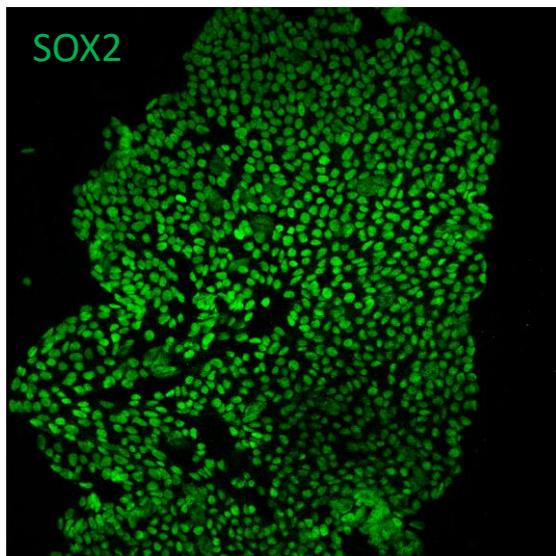
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**



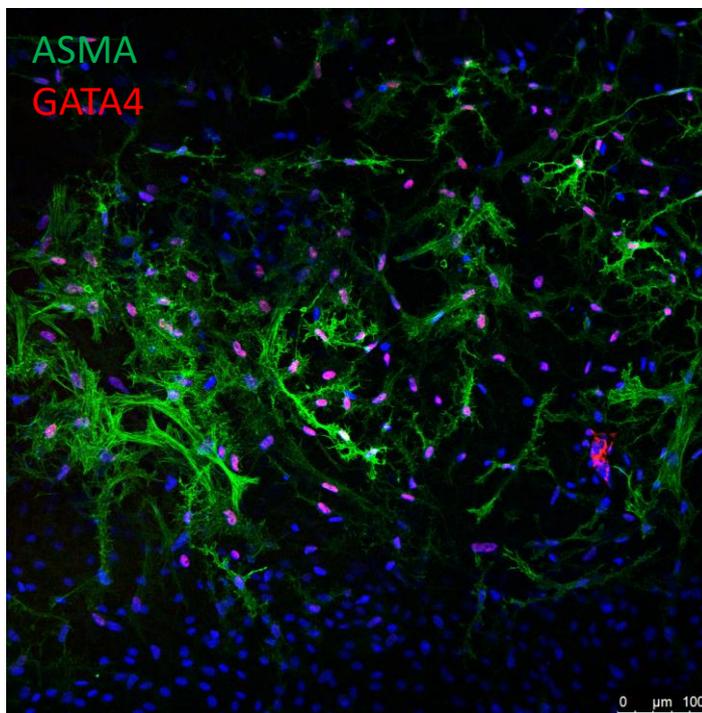
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

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

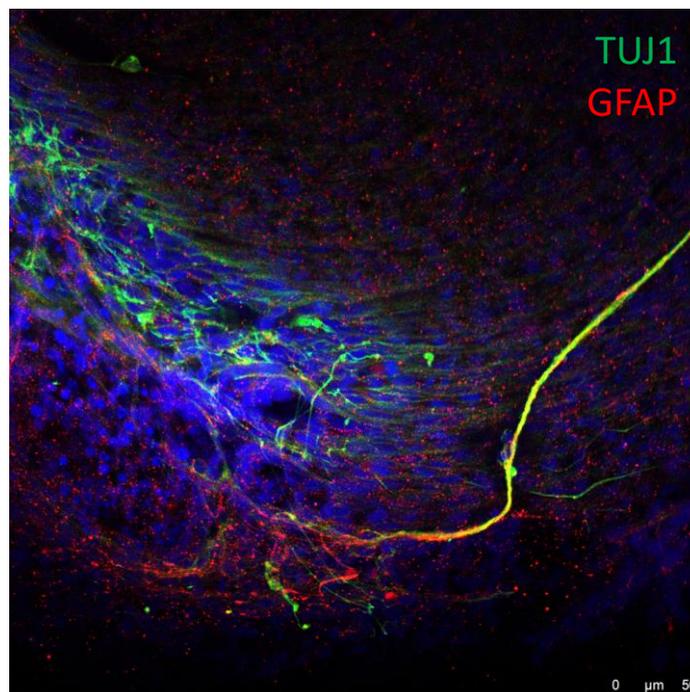


## **Anexo 2**

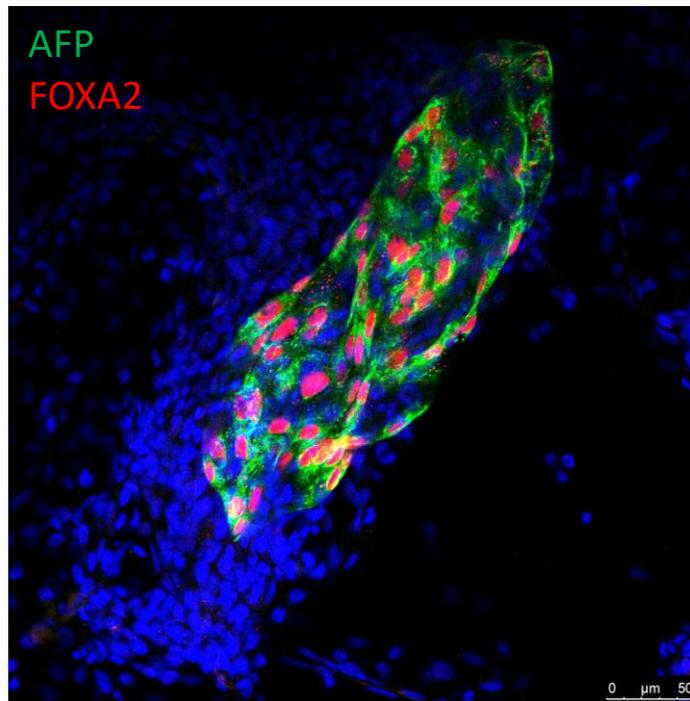
### **Diferenciación *in vitro***



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**

## ESTUDIO CITOGENETICO

Case name: 10700777

Servicio: IDIBELL

NHC: CT0218

Tipo de muestra: CM

Nombre y Apellidos: SPGFIPS2-Ep6F-8 p12



Case: 10700777 Slide: 1 Cell: 2

Resultado: 46,XX



## **Anexo 4**

### **Resultado microsátélites**

## P-CMR[C]

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
SPG FiPS2-Ep6F-8 p12	6; 9.3	28; 31.2	11; 12	10; 12	8; 9	11	9; 10	X	15; 16	8; 11

## P-CMR[C]

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

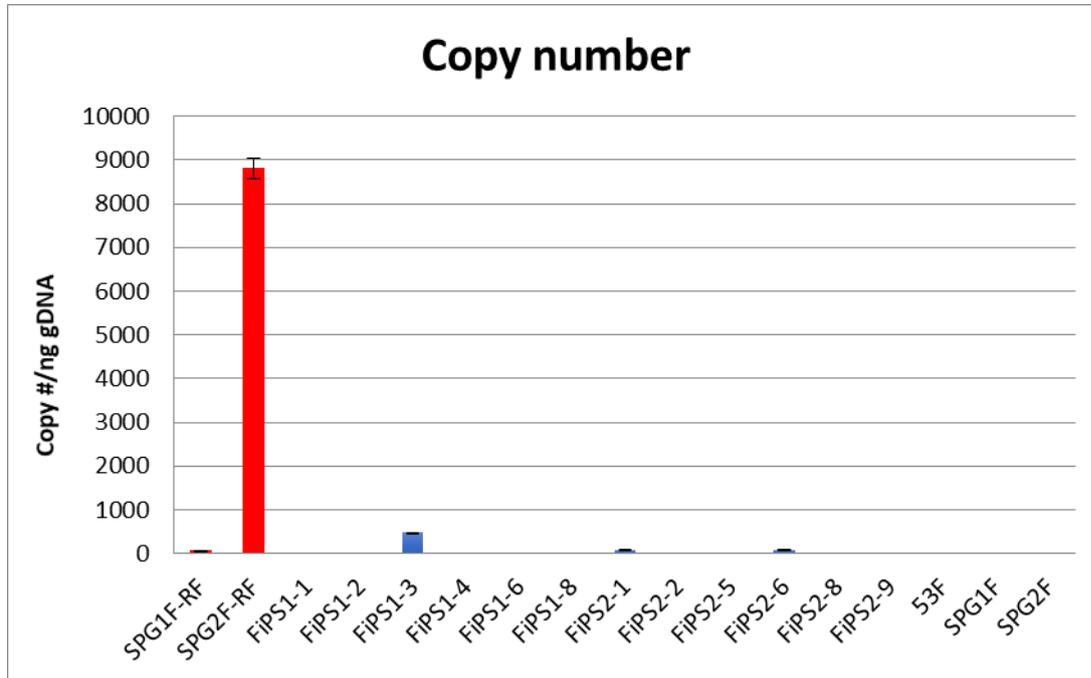
Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
Fb SPG2 fibroblasts, P3, 2M cells, 13.10.20	6; 9.3	28; 31.2	11; 12	10; 12	8; 9	11	9; 10	X	15; 16	8; 11

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

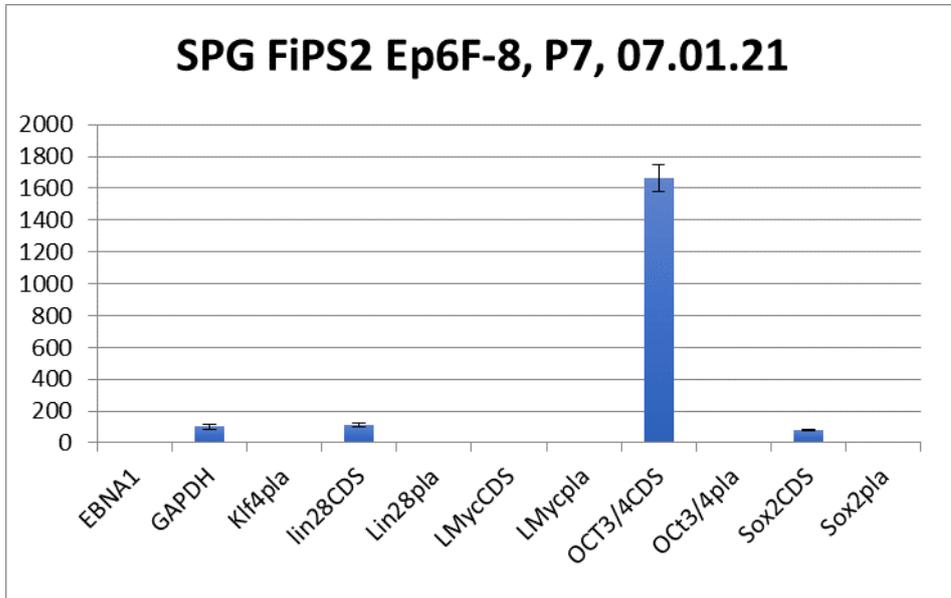


## **Anexo 5**

### **Ausencia de los transgenes de reprogramación**



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC (FiPS2-8 corresponde a la abreviación de **SPG FiPS2-Ep6F-8**) y en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG2F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección (**SPG2-RF**)



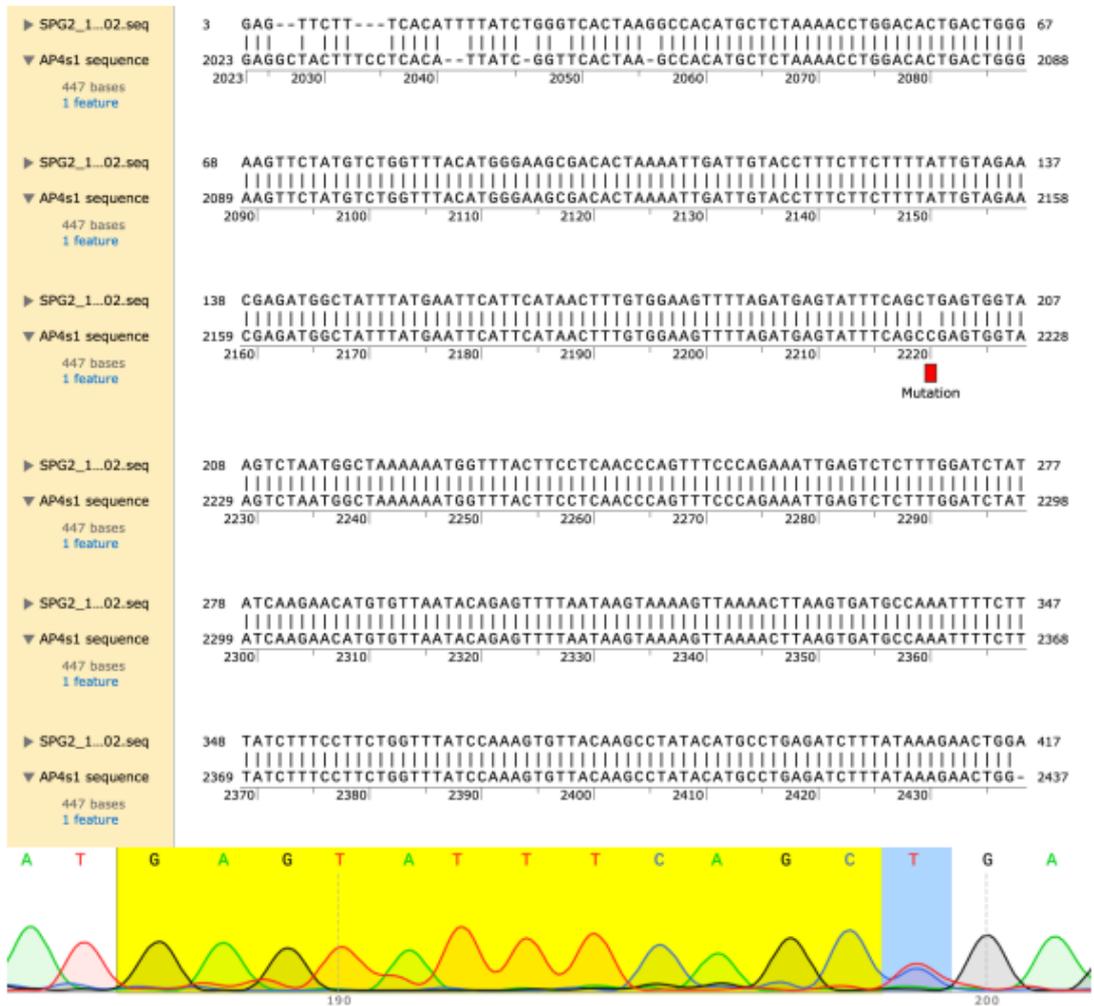
Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea SPG FiPS2-Ep6F-8.



## **Anexo 6**

### **Comprobación de la presencia de la mutación**

**SPG2 – Madre de la paciente con SPG52, portadora en heterocigosis de la mutación**  
 La línea SPG2 es portadora de la variante c.289C>T en heterocigosis. En la alineación de secuencias podemos observar que aparece la mutación, y en el electroferograma confirmamos que se encuentra en heterocigosis al observar dos picos de la misma altura para las bases C (alelo sano) y T (alelo mutado).

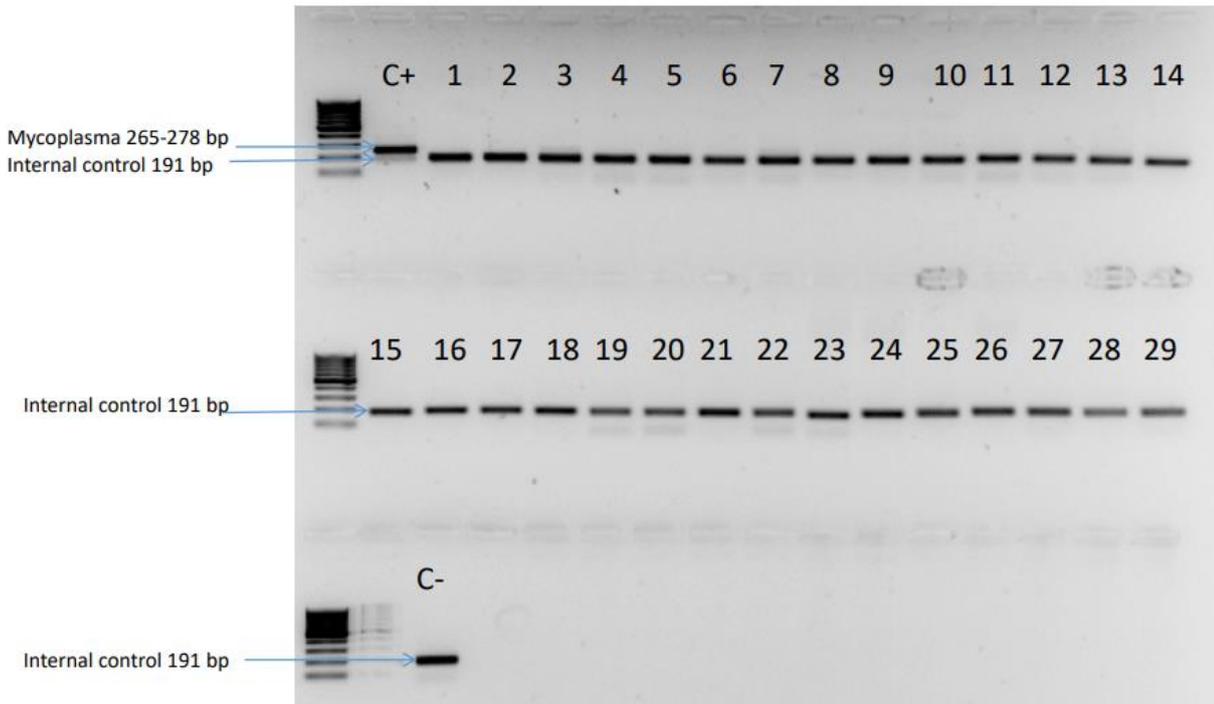




## **Anexo 7**

### **Resultado test de micoplasma**

**Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 10/03/2021**



27. -SPG FiPS1-Ep6F-4 p11  
28. -SPG FiPS2-Ep6F-8 p11