

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **SP-02#1** EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia **SP-02#1**

Anexo 2: Cariotipo **SP-02#1**

Anexo 3: Diferenciación *in vitro* **SP-02#1**

Anexo 4: Diferenciación *in vivo* **SP-02#1**

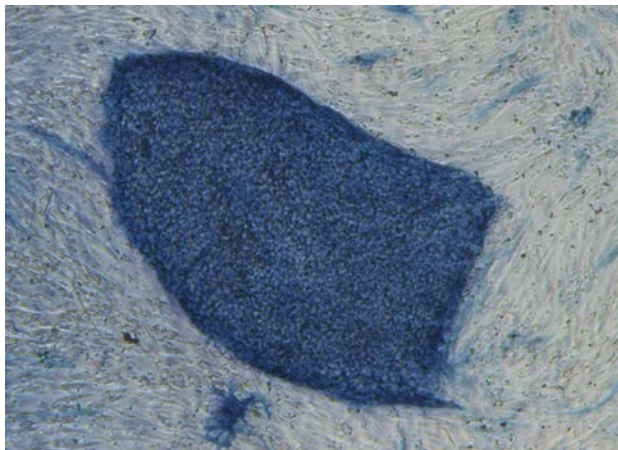
Anexo 5: Reprogramación del perfil de expresión génica y del perfil de metilación del DNA **SP-02#1**

Anexo 6: Integración de los transgenes de reprogramación y silenciamiento de los transgenes de reprogramación **SP-02#1**

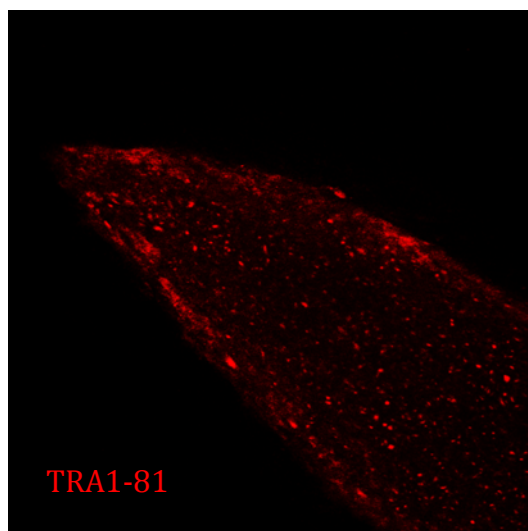
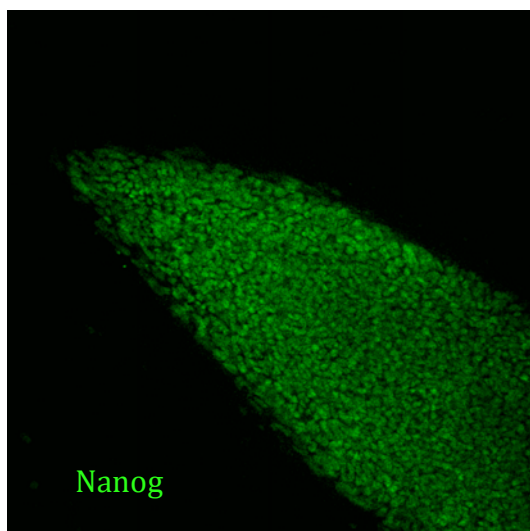
Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

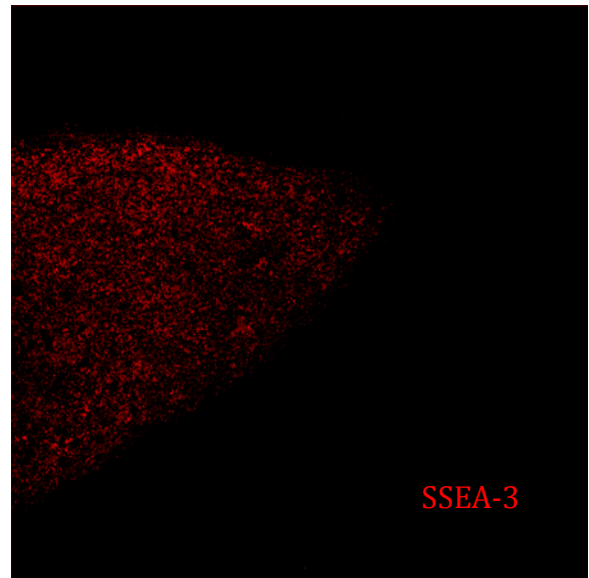
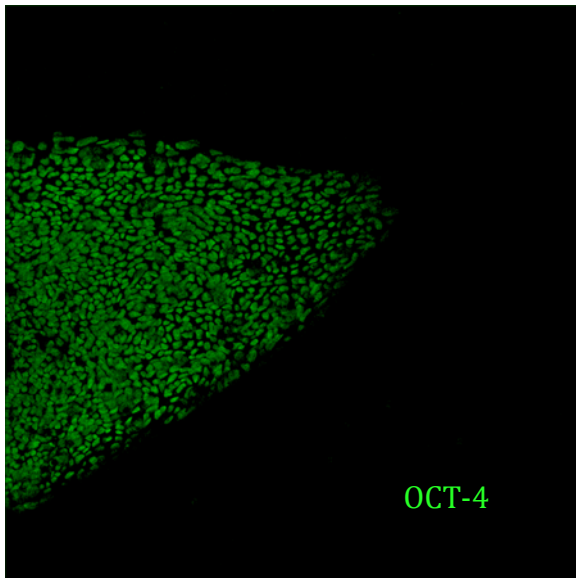
SP-02#1



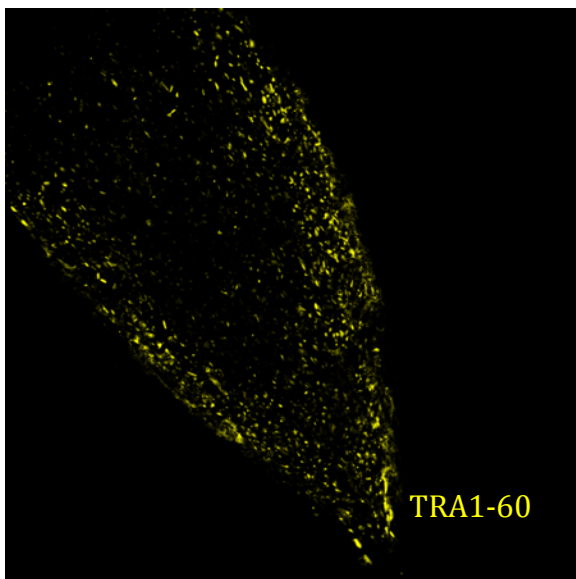
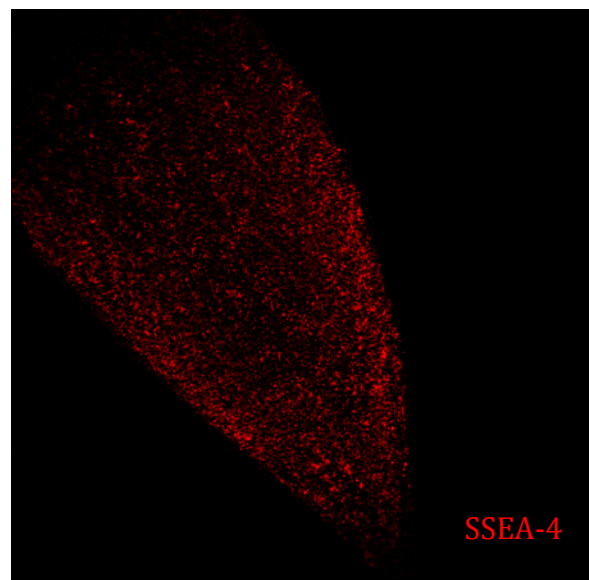
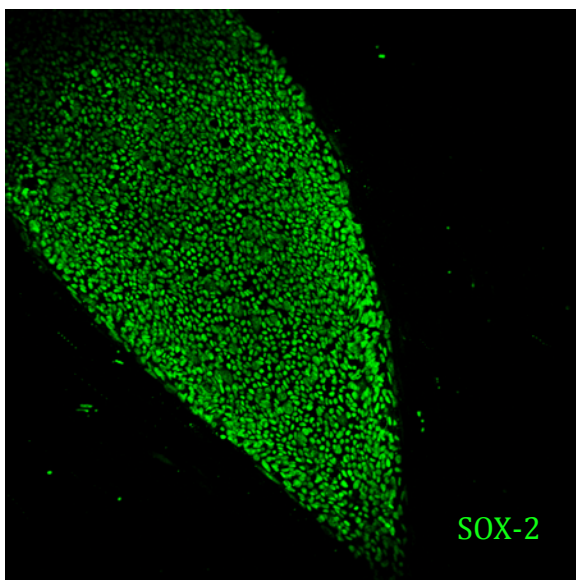
Actividad fosfatasa alcalina de la línea de células madre pluripotentes **SP02#1**



Immuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes **SP-02#1** para **Nanog** y **TRA1-81**.



Immuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes **SP-02#1** para **OCT-4** y **SSEA-3**.



Immuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes **SP-02#1** para **SOX-2** , **SSEA-4** y **TRA1-60**.

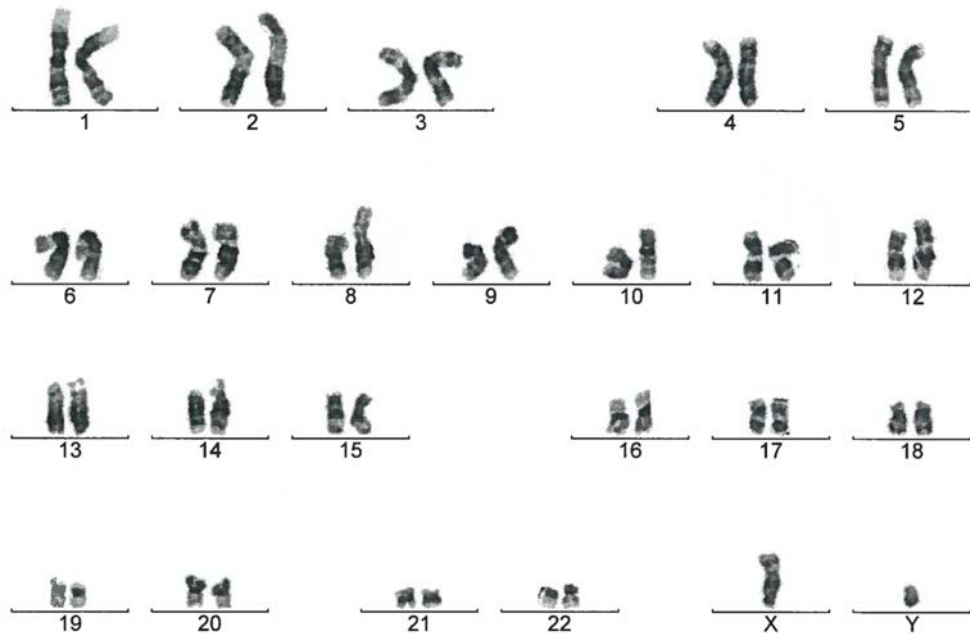
Anexo 2

Cariotipo **SP-02#1**

Nombre de la muestra: SP-02#1

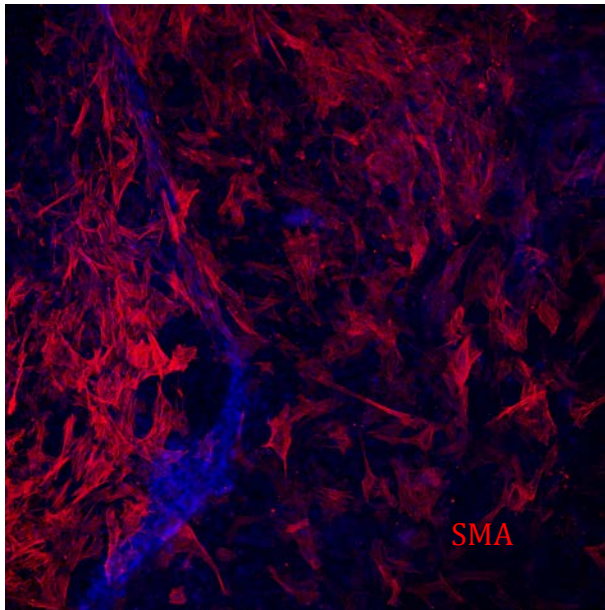
Pase: 11

Resultado: 46,XY

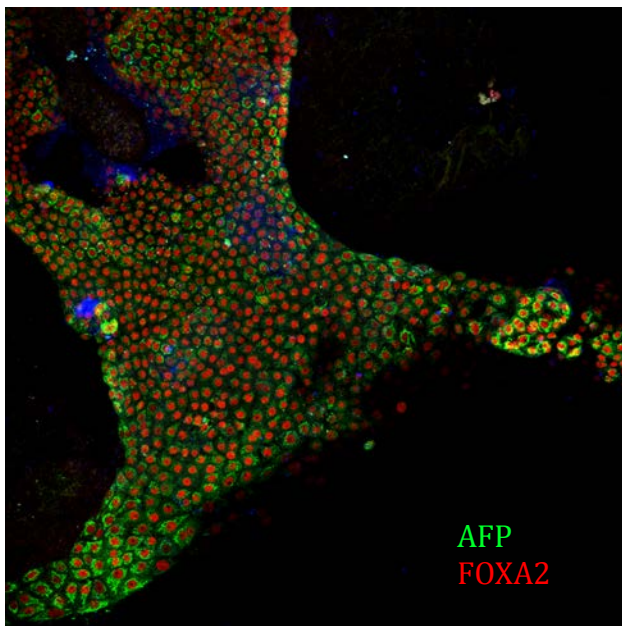


Anexo 3

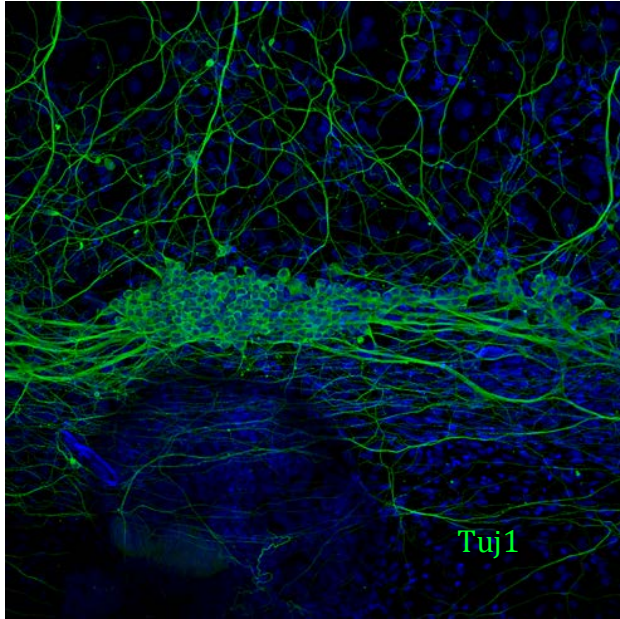
Diferenciación *in vitro* **SP-02#1**



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



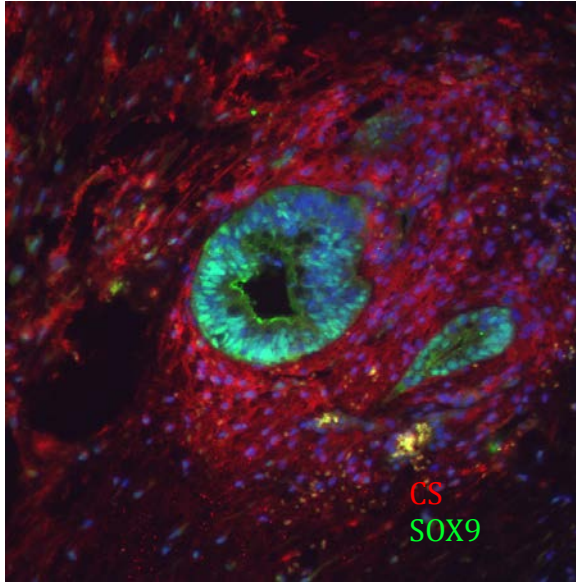
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **α -fetoproteína** y **FOXA2**



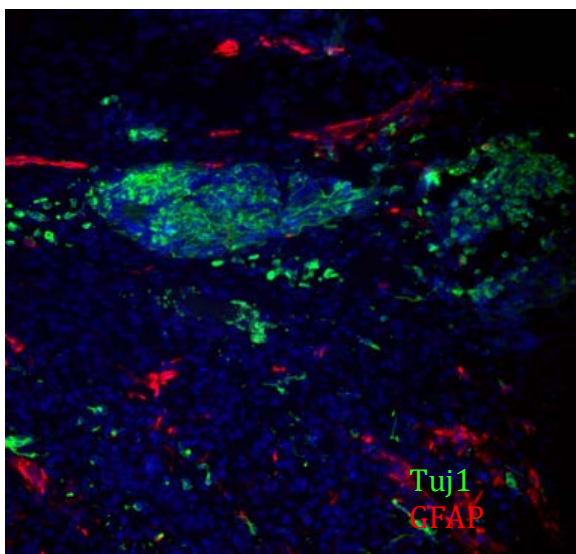
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1**

Anexo 4

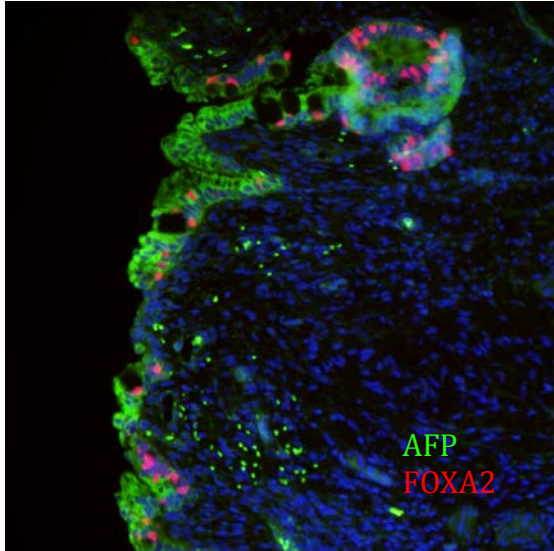
Diferenciación *in vivo* **SP-02#1**



Diferenciación *in vivo* a mesodermo : Células positivas por **CS** y **SOX9**



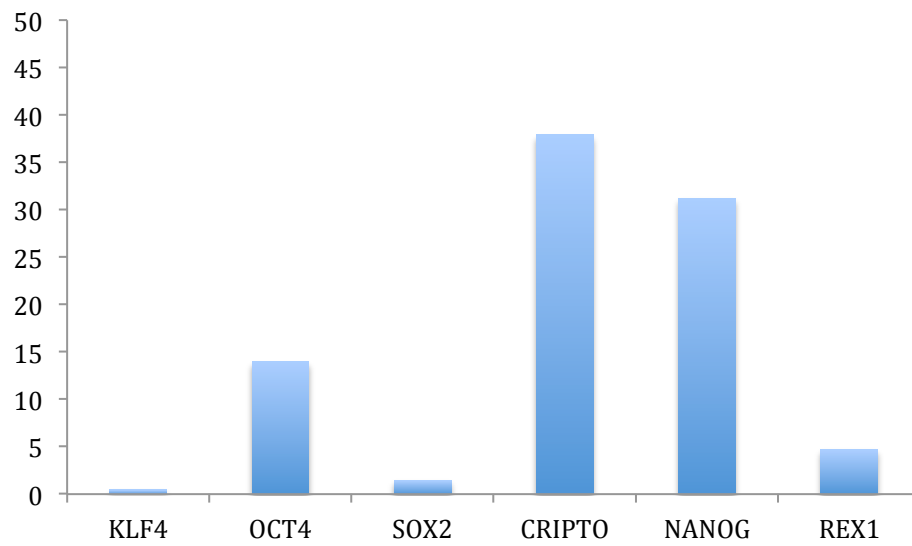
Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1** y **GFAP**



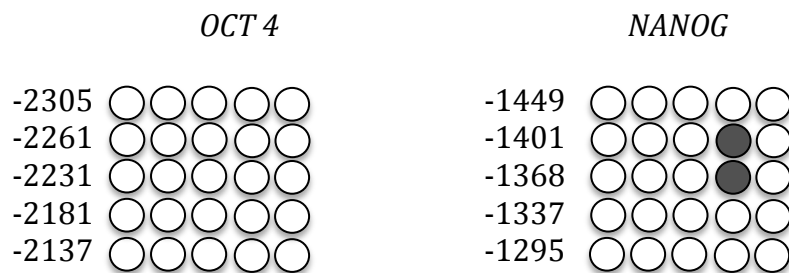
Diferenciación *in vivo* a endodermo : Células positivas para **α -fetoproteína** y **FOXA2**

Anexo 5

Reprogramación del perfil de expresión génica y del perfil de metilación del DNA **SP-02#1**



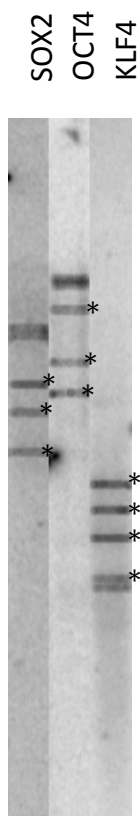
Análisis por Q-RT-PCR de los niveles de expresión de los genes endógenos indicados. Se muestra la expresión relativa a GAPDH.



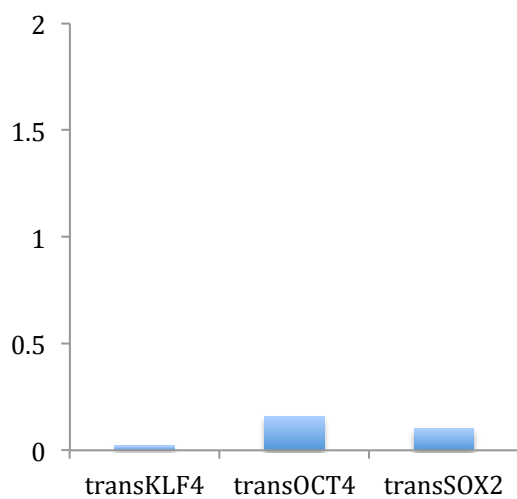
Secuenciación genómica por bisulfito mostrando demetilación de los promotores de *OCT4* y *NANOG*.

Anexo 6

Integración de los transgenes de reprogramación y
silenciamiento de los transgenes de reprogramación
SP-02#1



Análisis southern blot mostrando las integraciones genómicas (asterisco) de los retrovirus indicados.



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