CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [IDDM1] FiPS 1.13-Ep6F-9 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: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación
Anexo 6: Resultado test de micoplasma

CMR[B]

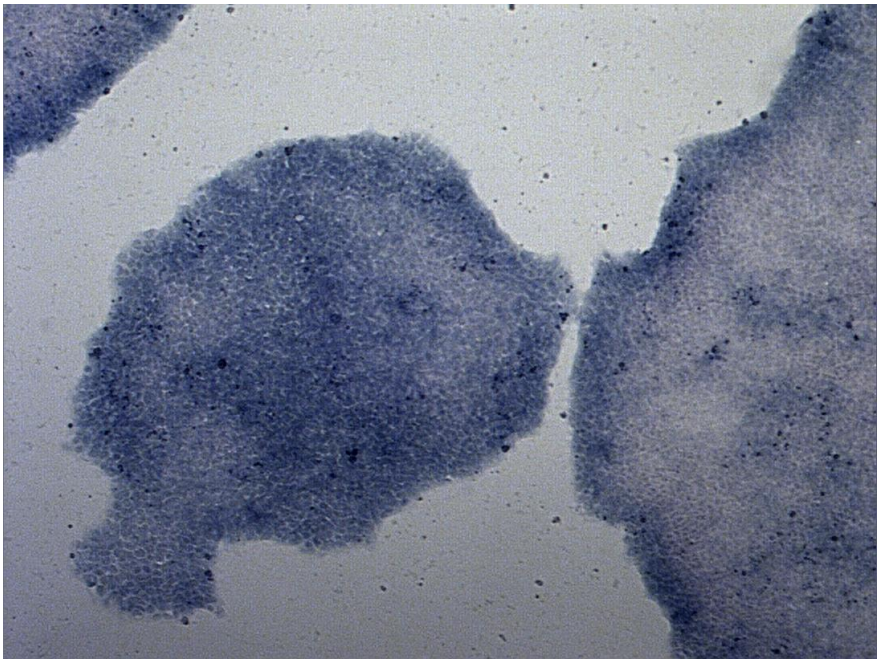
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

CMR[B]

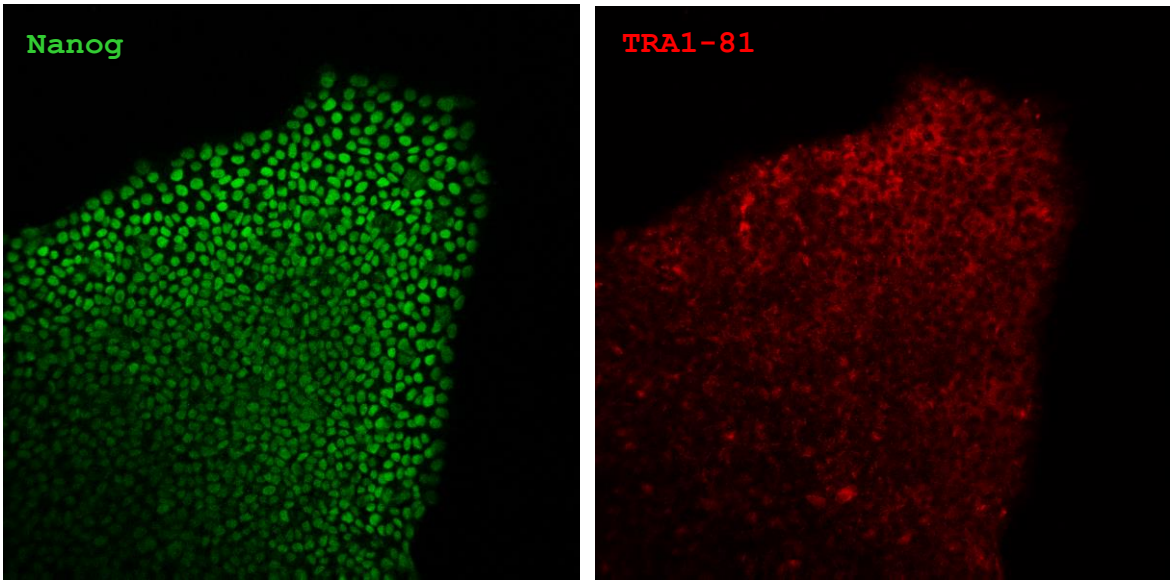
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona



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

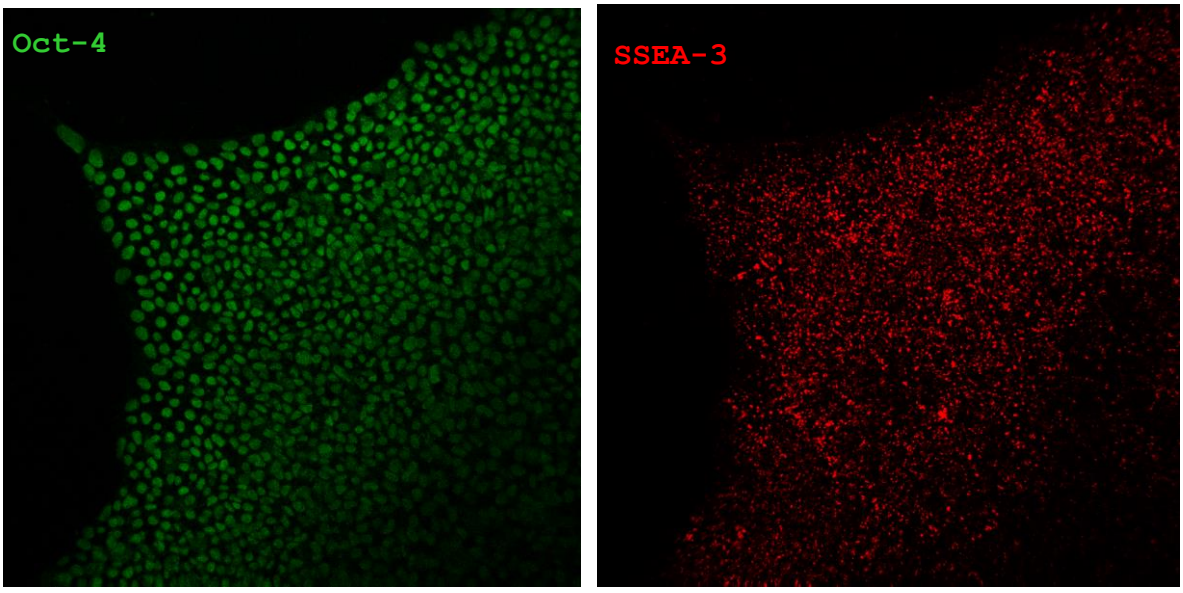
CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y **TRA1-81**

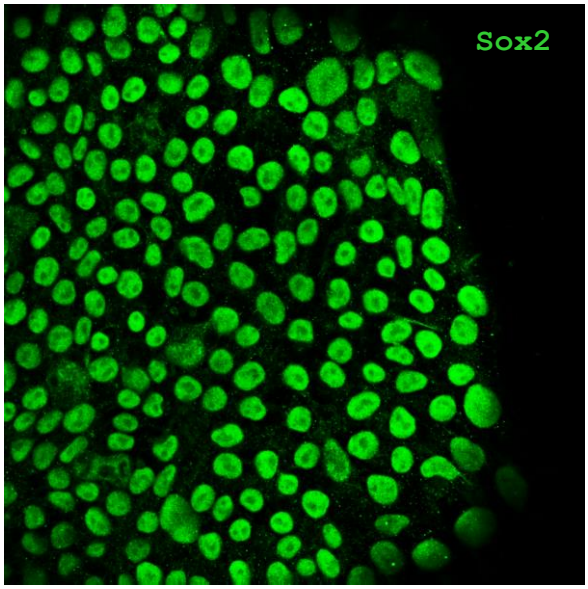


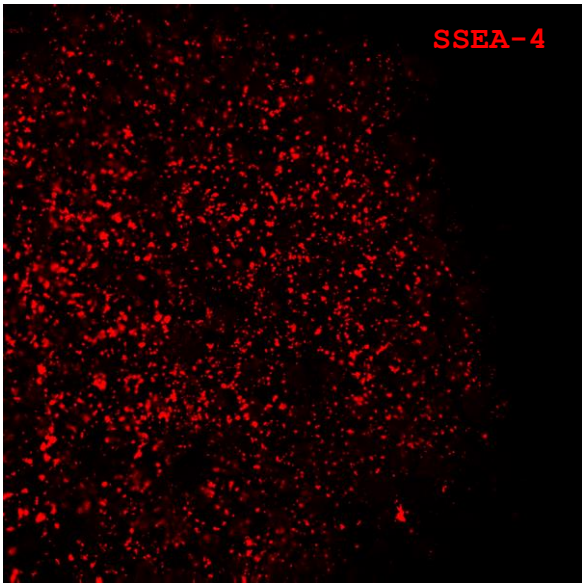
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

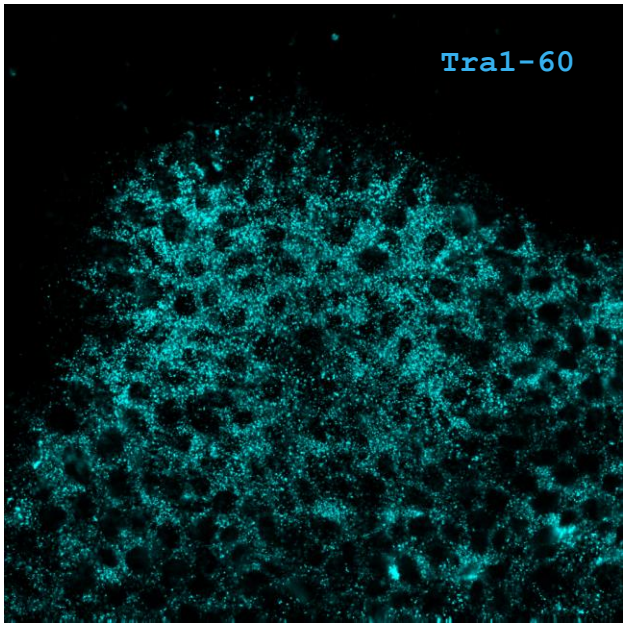
Oct-4 y **SSEA-3**

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona







Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

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

[IDDM1] FiPS 1.13-Ep6F-9

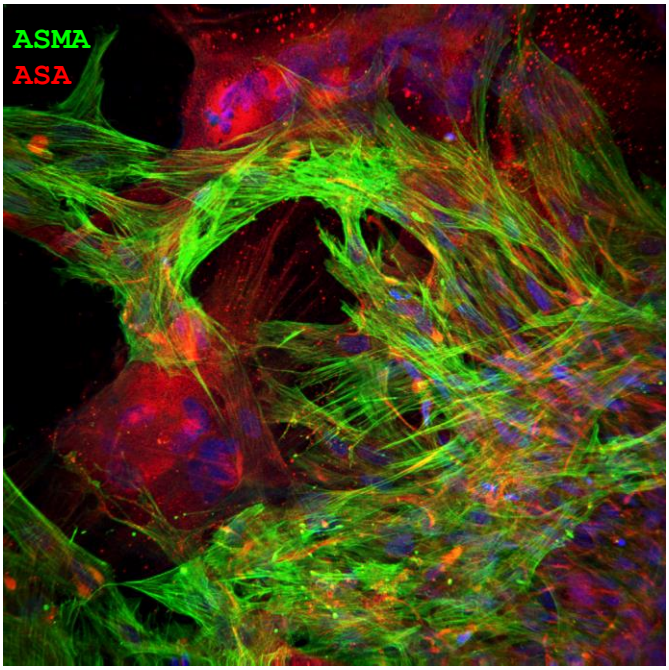
CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

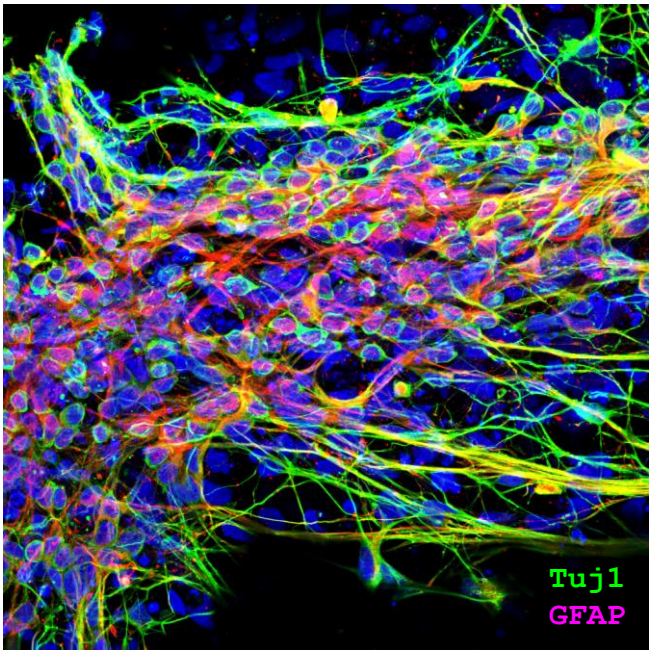
Anexo 2

Diferenciación *in vitro*

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona



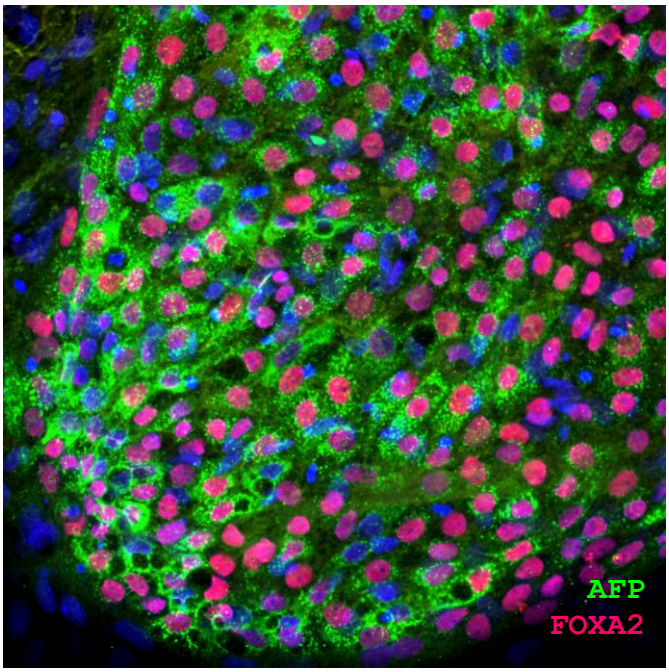
Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y ASA**



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

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona



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

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Anexo 3

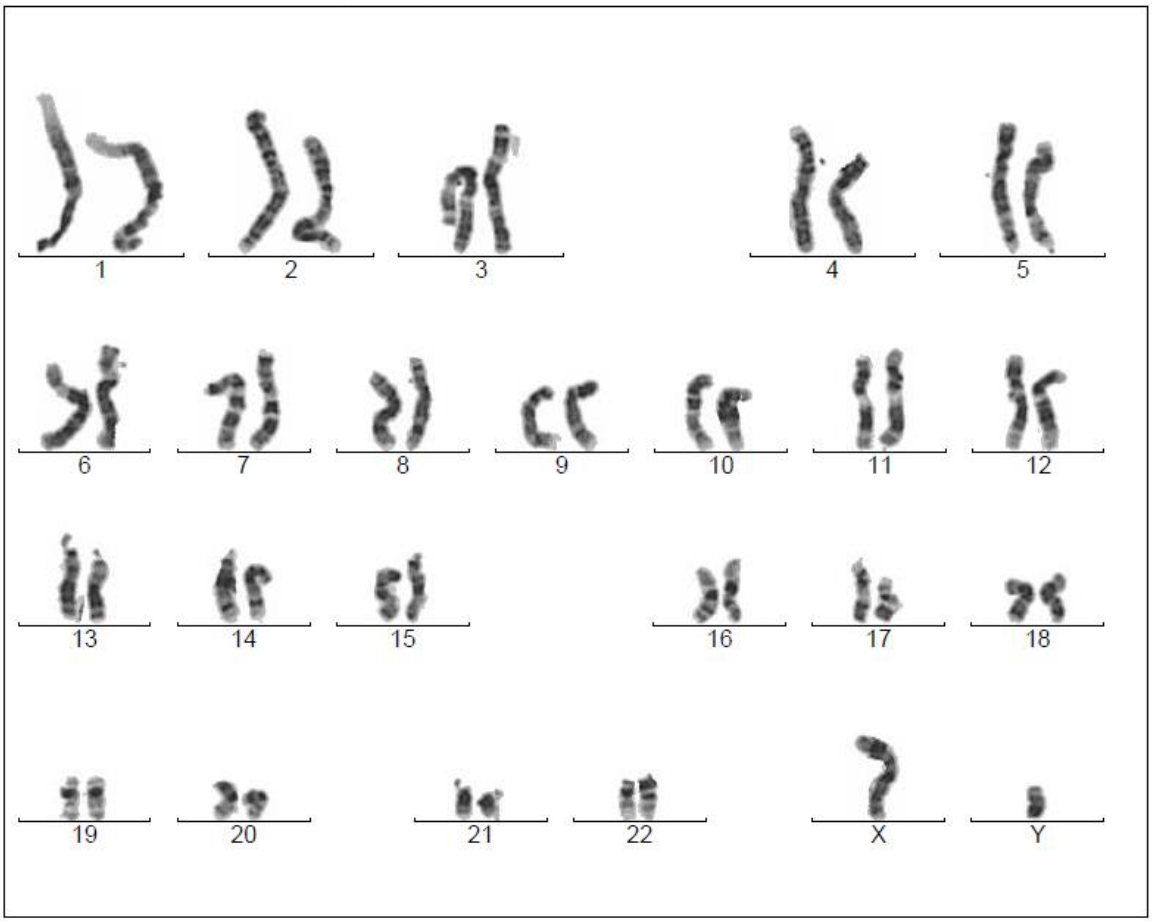
Cariotipo

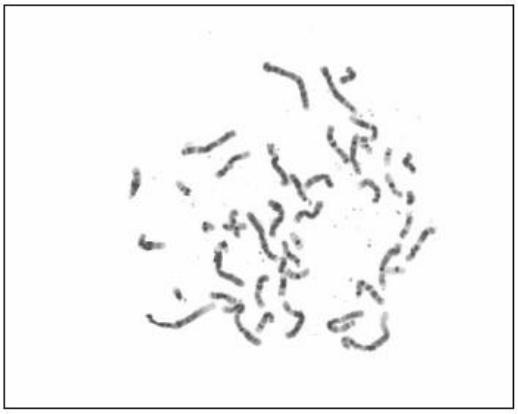
CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Ambar
ANÀLISIS MÈDIQUES
BARCELONA

Cytogenetic analysis





Case name: A179623

Patient name: IDDM-1 FiPS1.13-Ep6F-9 p22

Specimen type: stem cells

Result: 46,XY

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Anexo 5

Resultado microsatélites

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

qgenomics

qCell Identity Test

Web: http://www.qgenomics.com
Email: info@qgenomics.com
Tel: 93.230.12.70

Servicio de autentificación 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: IDDM1 FiPS1-13-Ep6F#9 p14 (1)
Identificador interno: qG16020438
Descripción: 1 epp DNA cell line.

Informe de resultados

Resultados

Calidad de la muestra: Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
IDDM1 FiPS1-13-Ep6F#9 p14 (1)	6-9.3	30-32.2	12-13	8-14	8-9	11-13	9-10	XY	16-20	10

Coincidencia con línea celular conocida: No **Cual:**
Contaminación con otra línea celular humana: No detectable
Observaciones: El patrón alélico de la muestra analizada concuerda con el patrón de la muestra D1.13 p9 en 19 de los 20 alelos (ausencia del alelo 12 del marcador TPOX)

Firmado:
Manel Garcia

Fecha: 18/07/2016

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).
Este método no permite distinguir la estructura genética subyacente a los resultados observados. Por ejemplo, no permite determinar si una muestra homozigota lo es realmente (tiene dos alelos iguales), o si se trata de un alelo combinado con una deleción en el otro alelo.

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Informe de resultados

Resultados

Calidad de la muestra: Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
Diabetis D1.13 p8	6-9.3	30-32.2	12-13	8-14	8-9	11-13	9-10	XY	16-20	10-12

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 IDDM-1 D1-13 FIPS 4F-11 (qG15013237).

Firmado:
Manel Garcia

Fecha: 02/06/2015

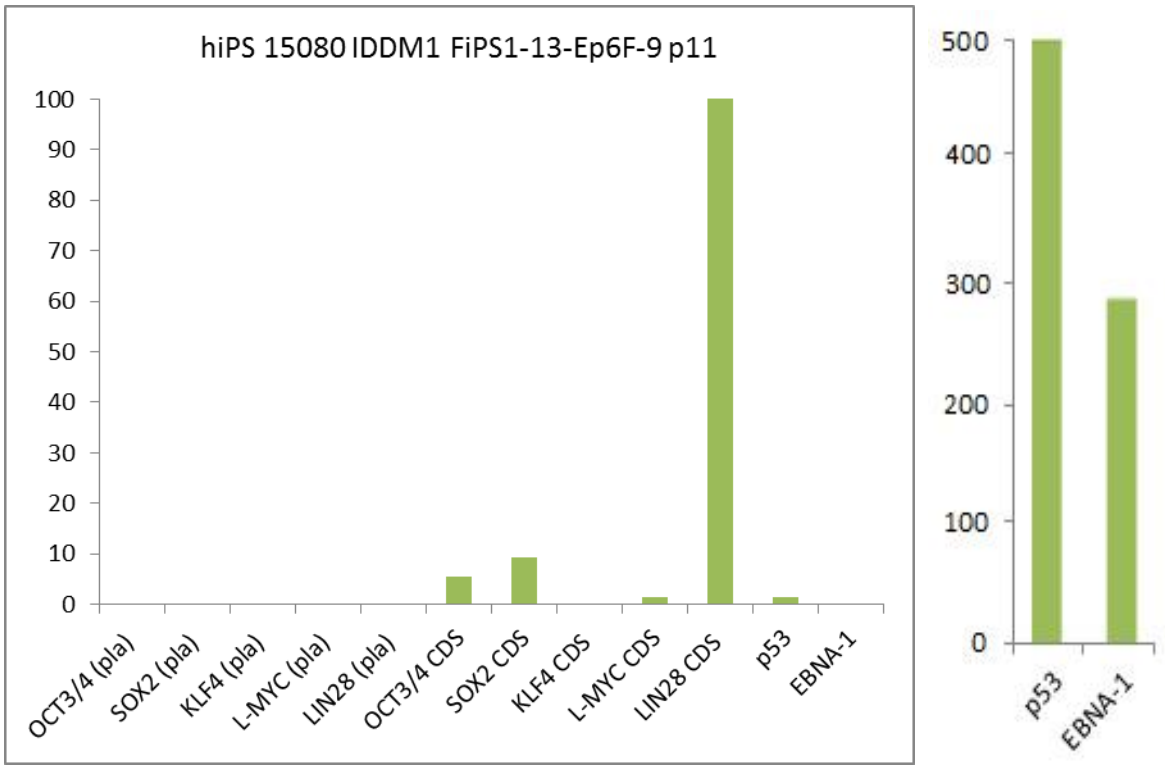
Análisis de microsatélites en la línea de células madre pluripotentes [IDDM1] FiPS 1.13-Ep6F-9 y en la línea de fibroblastos de la cual proceden.

CMR[B]

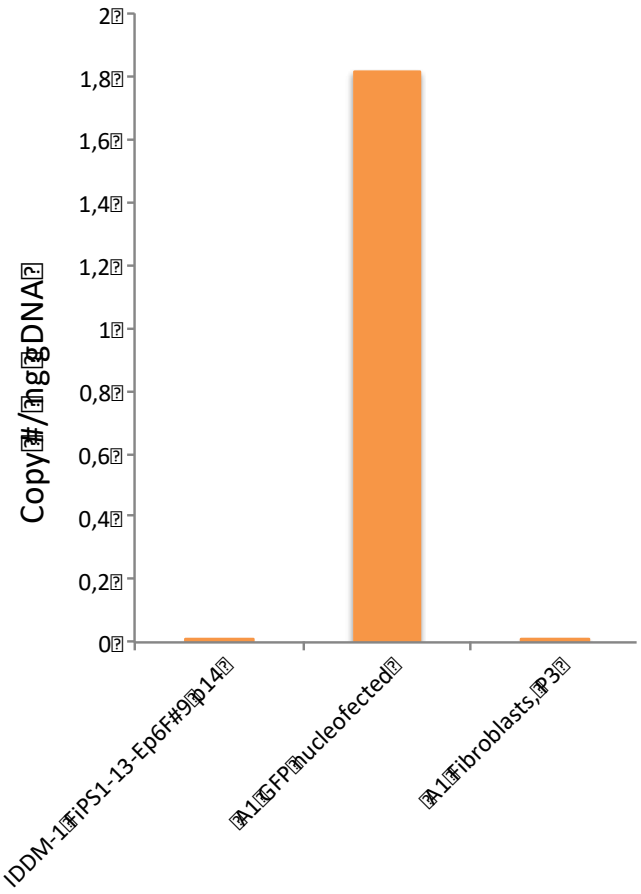
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Anexo 5

Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación



Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS).



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC y en fibroblastos control no-nucleofectados y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección.

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Anexo 6

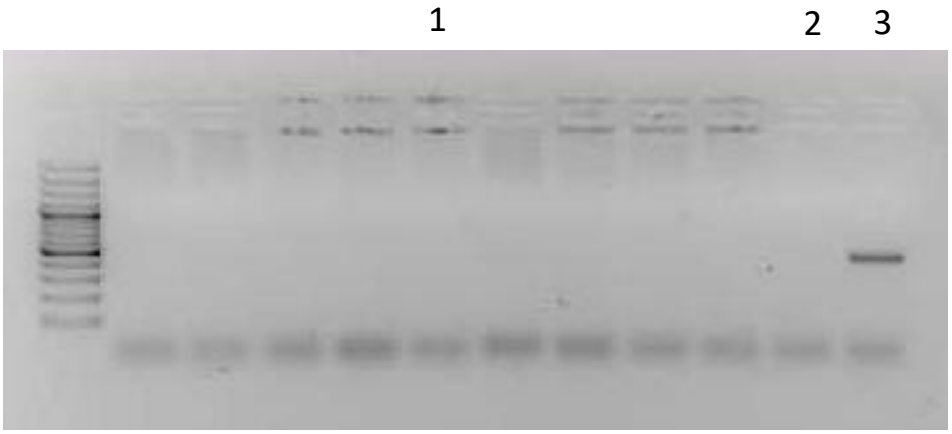
Resultado test de micoplasma

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

MYCOPLASMA TEST

09-11-2016



1. IDDM1 FiPS1.13 Ep6F-9 p21
2. CT -
3. CT +