

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR ES[11-EM] EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES.

ANEXOS

Anexo 1: Informe independiente del tipado HLA **ES[11-EM]**

Anexo 2: Informe independiente de detección de la mutación **ES[11-EM]**

Anexo 3: Fenotipo. Marcadores indiferenciación **ES[11-EM]**

Anexo 4: Cariotipo **ES[11-EM]**

Anexo 5: Diferenciación *in vitro* **ES[11-EM]**

Anexo 6: Diferenciación *in vivo* **ES[11-EM]**

Anexo 1

HLA ES[11-EM]



Informe

ES[11]-EM -, MOSTRA

200907271092672

Data	: 27/07/2009	Dr. ANNA VEIGA
Num. Història		BANC DE LINIES CEL·LULARS
Num. Episodi	: 98E084554	
Data Naixement	: No Consta	CENTRE DE MEDICINA REGENER. DE BARCELONA
Ref. Externa	:	CL/Dr. Aiguader, 88.7-pl
Hab./Ll.	:	(08003) BARCELONA
Origen	: 171	
Diagnòstic	:	
Observacions	:	

Histocompatibilitat

Responsables: Dr Eduard Palou Rivera, facultatiu especialista; Dra M José Herrero Mata, facultatiu especialista

Paràmetre	Resultat
Genotip HLA-A baixa resolució	A*01 A*02
Tècnica HLA-A baixa resolució	PCR-SSO
Genotip HLA-B baixa resolució	B*41 B*53
Tècnica HLA-B baixa resolució	PCR-SSO
Genotip HLA-C baixa resolució	Cw*04 Cw*17
Tècnica HLA-C baixa resolució	PCR-SSO
Genotip HLA-DR baixa resolució	DRB1*13 DRB1*15
Tècnica HLA-DR baixa resolució	PCR-SSO
Genotip HLA-DQ baixa resolució	DQB1*03 DQB1*06
Tècnica HLA-DQ baixa resolució	PCR-SSO

Immunogenètica

Responsables: Dr Eduard Palou Rivera, facultatiu especialista; Dra M José Herrero Mata, facultatiu especialista

Paràmetre	Resultat
Estudi Quimerisme pre TMO	Perfil al·lèlic del pacient.
Comentari:	Veure perfil STR adjunt.

Banc de Sang i Teixits, 05 de Agost de 2009

Laboratori d'Immunobiologia per la Recerca i les Aplicacions Diagnòstiques (IRAD)
Prof. R. Pujol Barnet, Cap de Laboratori
Laboratori certificat segons normes ISO 9001:2000 per Aqualis n° EC-024508
Laboratori d'Histocompatibilitat acreditat per EBPI (European Federation for Immunogenetics)
2ª planta edifici laboratori de recerca, Hospital Germans Trias i Pujol
Carme de Car. 741, camí de les Escalaes s/n 08919 Badalona
Tel 93 4975966 Fax 93 4976958 e-mail: immuno.irad@germanstrias.com
www.bancsangiteixits.org
05 de Agost de 2009

Laboratori d'Immunohematologia (Dr. E. Nolla-Díaz, Cap de Laboratori)
Tel 93 2746026 Ext. 9056 Fax 93 2746161
Laboratori de Coagulopaties Congènites
Tel 93 2746726, 80 2746727 Fax 93 2746727

Banc de Sang i Teixits
Plaça de la Vall d'Hebron 115-129 08035 Barcelona
www.bancsangiteixits.org

Anexo 2

Informe independiente de detección de la mutación ES[11-EM]

OMIM: *608210

DATOS DE LA MUESTRA

Referencia externa: No se refiere
Nuestra Referencia: BM04631
Fecha de entrada: 5/06/2009
Fecha de salida: 9/06/2009
Tipo de muestra: ADN extraído procedente de la línea celular ES[11].

MUESTRA ENVIADA POR:

Nombre del Doctor: Dra. Anna Veiga
Centro: Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Departamento: Banc de Línies Cel·lulars

ESTUDIO SOLICITADO: Detección de la mutación c.484delC en el exón 2 del gen EXT2.

METODOLOGÍA

1. Amplificación por PCR "heminested" del exón 2 del gen EXT2 utilizando oligonucleótidos fluorescentes.
2. Electroforesis de las muestras y detección fluorescente de los fragmentos obtenidos.
3. Análisis bioinformático mediante un software específico para el estudio de los alelos obtenidos.

RESULTADOS

Se ha analizado la muestra recibida por duplicado junto con ADN control del manipulador y controles positivos y negativos para la mutación objeto de estudio. En la tabla adjunta se indica el resultado obtenido.

Muestra	Mutación*		Genotipo	Resultado
BM04631	c.484delC	p.Gln162ArgfsX108	[c.484delC] + [=]	Presencia en heterocisosis

*Nomenclatura recomendada por la Human Genome Variation Society (HGVS)¹

INTERPRETACIÓN BIOLÓGICA

La línea celular ES[11] presenta el cambio c.484delC localizado en el exón 2 del gen EXT2. Esta mutación causa un cambio en la pauta de lectura y crea un codón de parada prematuro en la posición aminoacídica 269. Esto da lugar a una proteína EXT2 truncada, probablemente no funcional.

REFERENCIAS

1. den Dunnen y Antonarakis (2001) *Hum. Genet.* 109:121-124.

Paterna, 9 de junio de 2009

Prin

Dra. Trinitat M. Alberola Pons
LABORATORIO DE DGP MOLECULAR

LABORATORIO AUTORIZADO POR LA
CONSELLERIA DE SANITAT DE LA
GENERALITAT VALENCIANA.

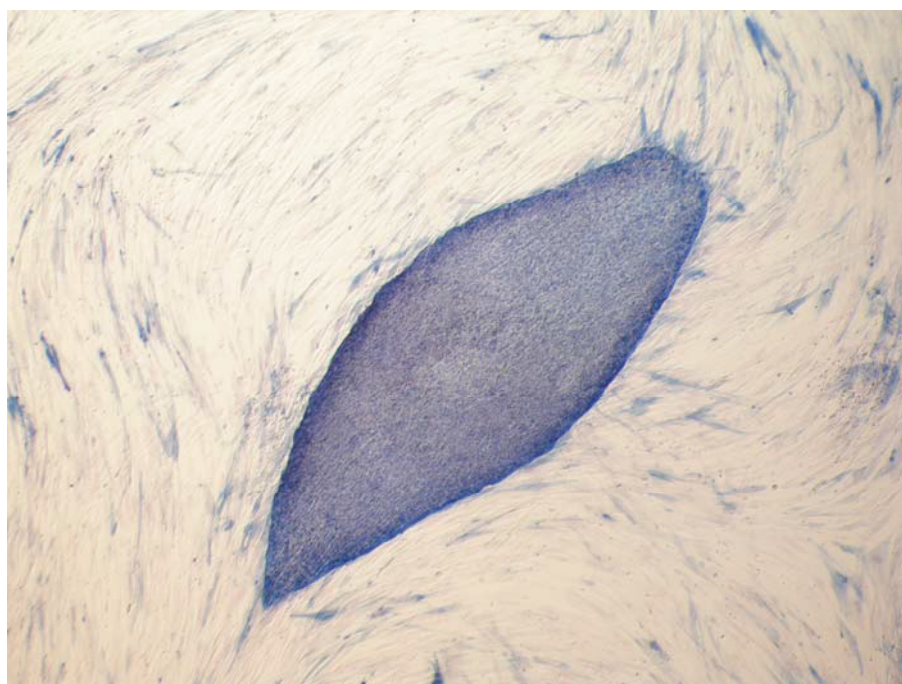
NÚMERO DE AUTORIZACIÓN: 5479

Timothy J. Farrell

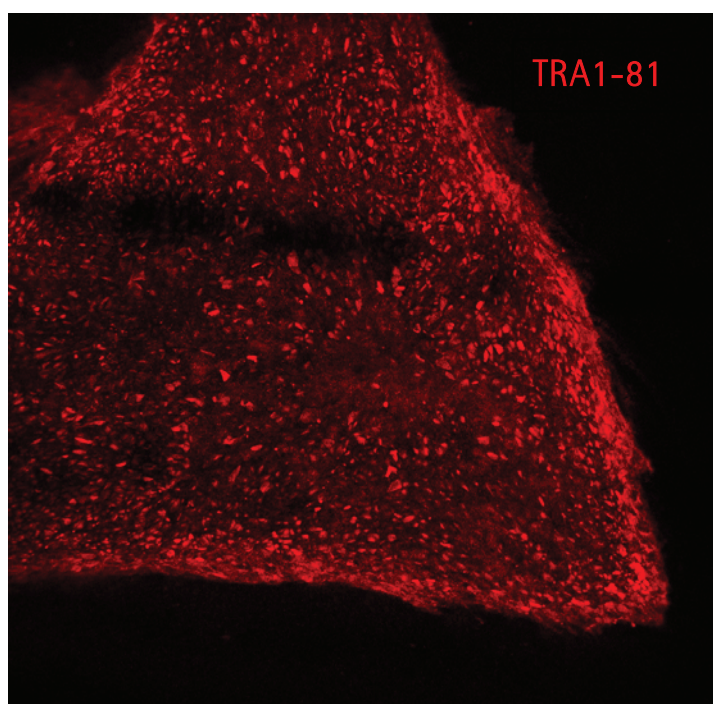
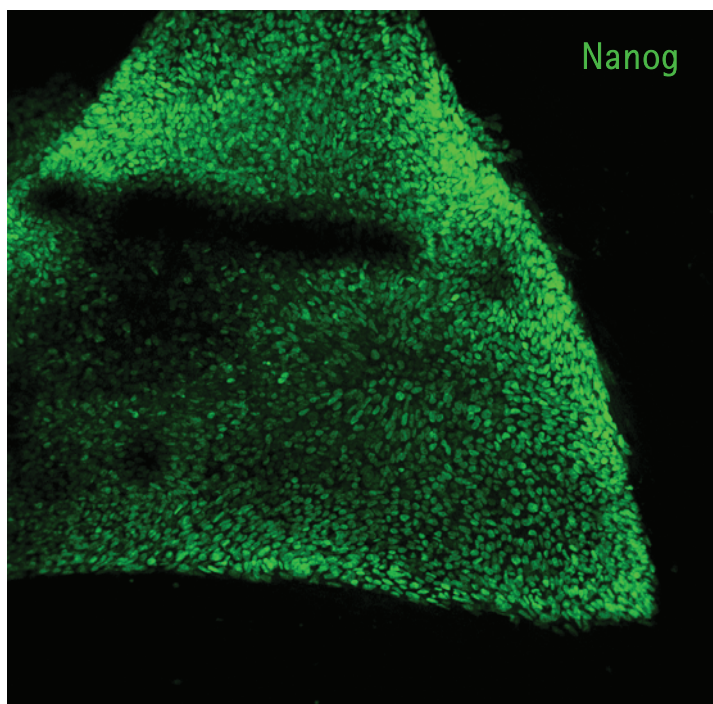
Dr. Xavier Vendrell Montón
UNIDAD DE GENÉTICA REPRODUCTIVA

Anexo 3

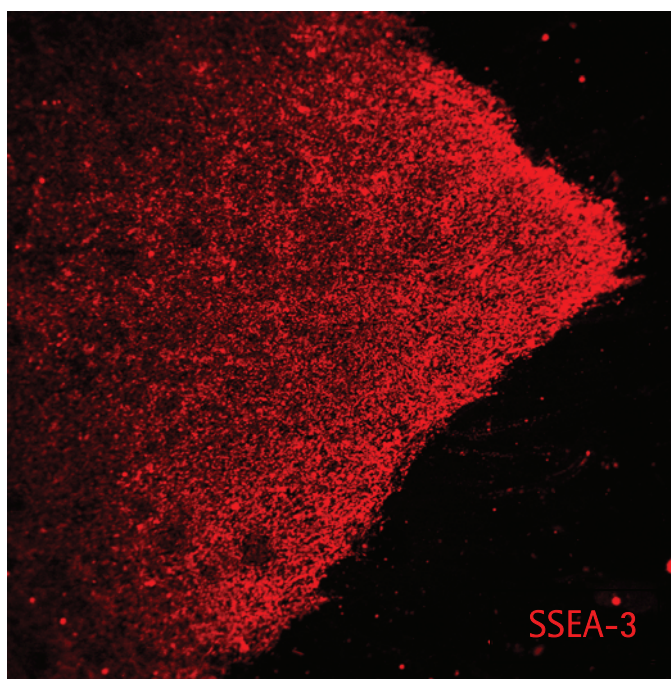
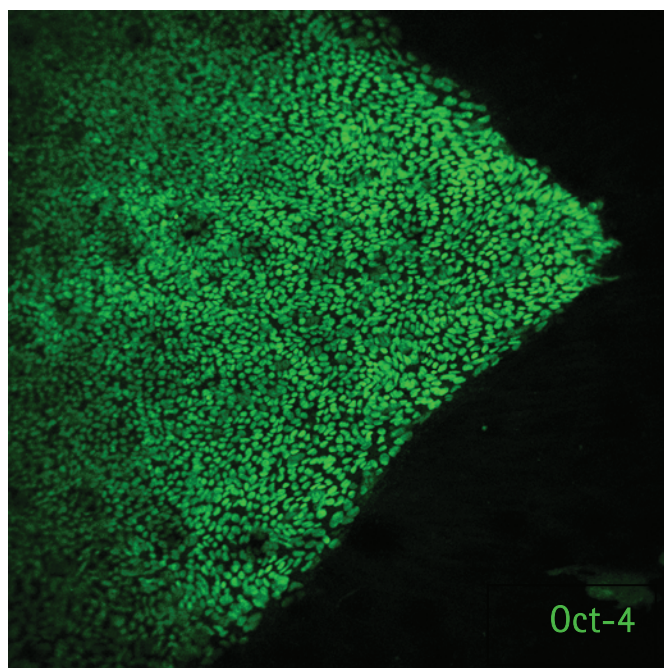
Fenotipo. Marcadores de indiferenciación ES[11-EM]



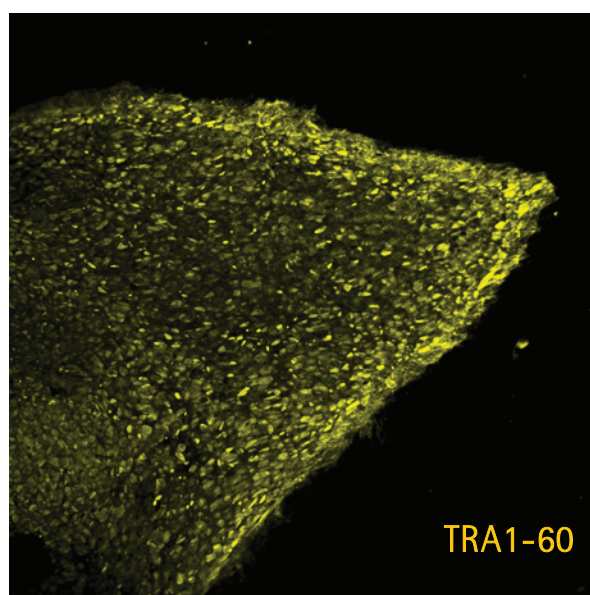
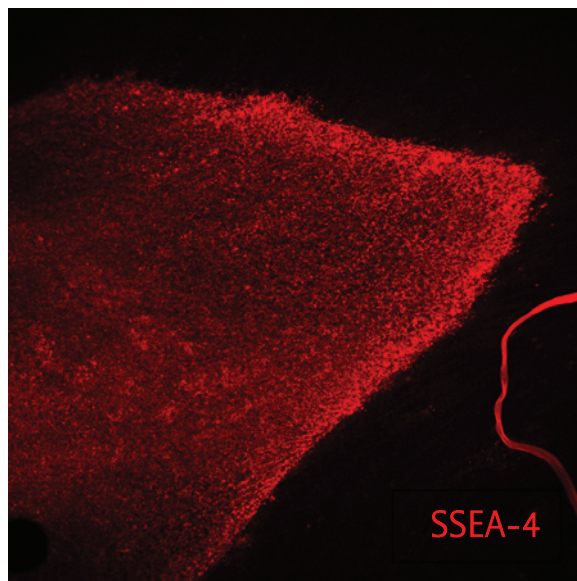
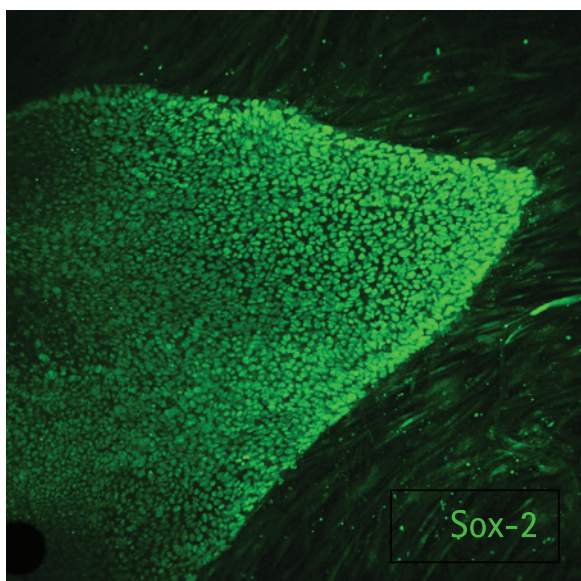
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células madre embrionarias ES[11-EM]



Inmuno-reactividad de la línea de células madre embrionarias ES[11-EM] para Nanog y TRA1-81.



Inmuno-reactividad de la línea de células madre embrionarias ES[11-EM] para Oct-4 y SSEA-3.



Inmuno-reactividad de la línea de células madre embrionarias ES[11-EM] para Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 4

Cariotipo

Línea de células madre embrionarias ES[11-EM]



ES[11]-EM p11

ES[11]-EMp11

Data d'entrada: 23/07/2009

ESTUDI CITOGENÈTIC

El resultat obtingut en l'estudi citogenètic fet a la mostra de **cèl·lules mare** rebuda amb aquest nom és:

- **Resultat citogenètic: 46,XY**

Comentari:

En l'estudi citogenètic realitzat mitjançant la tècnica de bandes G amb 150bjh no s'ha observat cap alteració cromosòmica. S'ha estudiat un total de **20** metafases procedents dels cultius cel·lulars de la mostra.

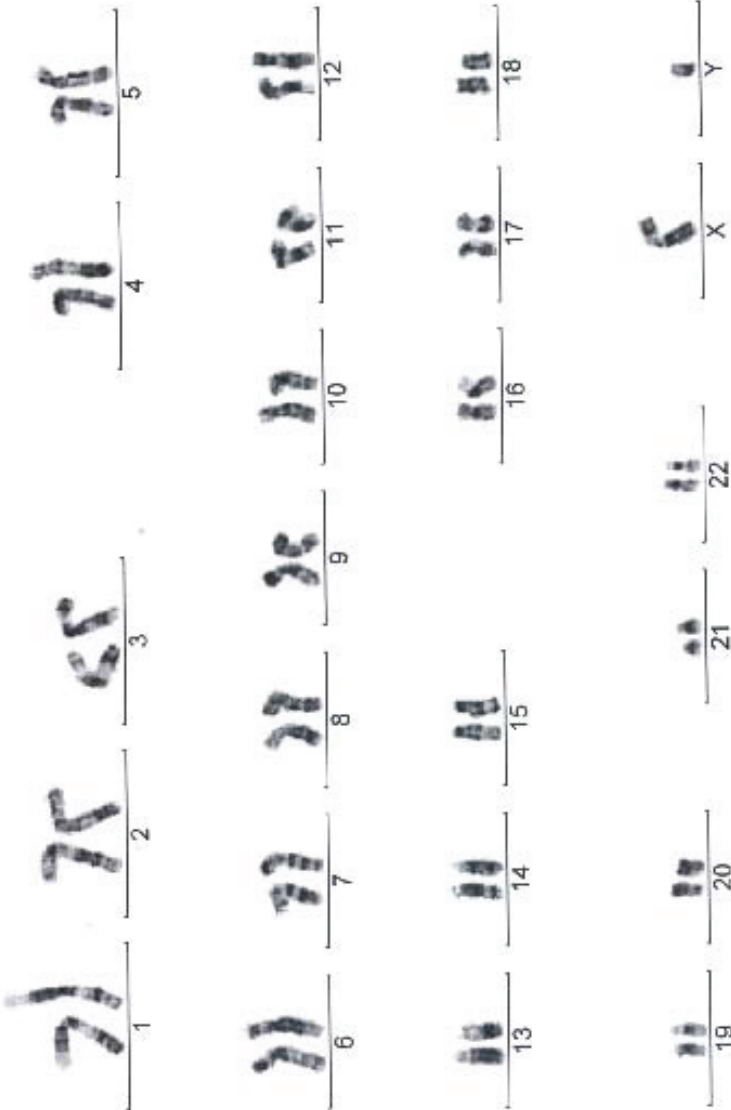
Observacions:

El resultat citogenètic no exclou la presència d'anomalies no detectables degut a limitacions pròpies de la tècnica, com poden ser: mosaics de baixa freqüència i alteracions estructurals de mida petita (microdeleccions i microduplicacions).

Els estudis citogenètics tenen una fiabilitat superior al 99%.

Barcelona, 31/07/2009

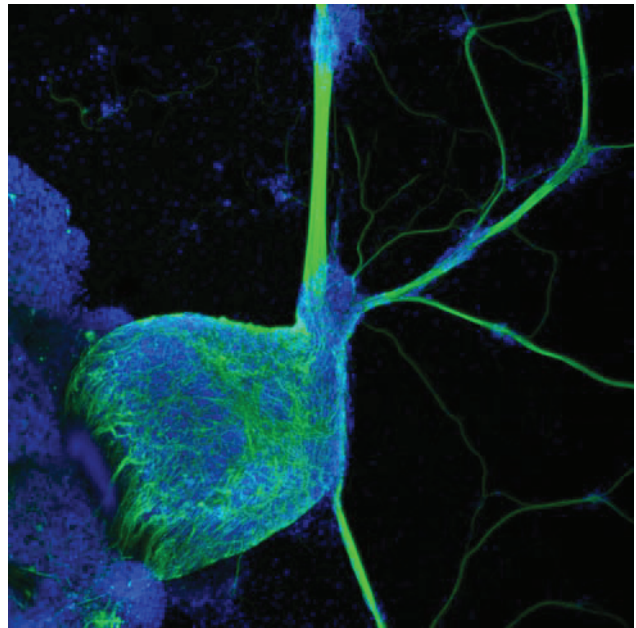
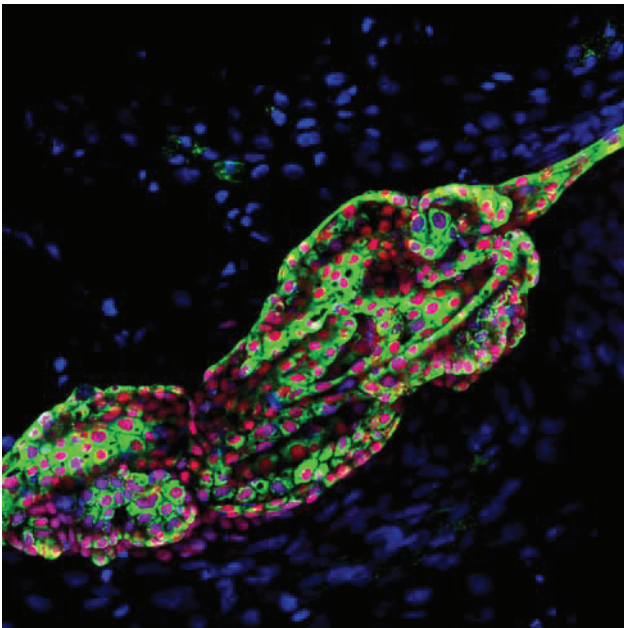
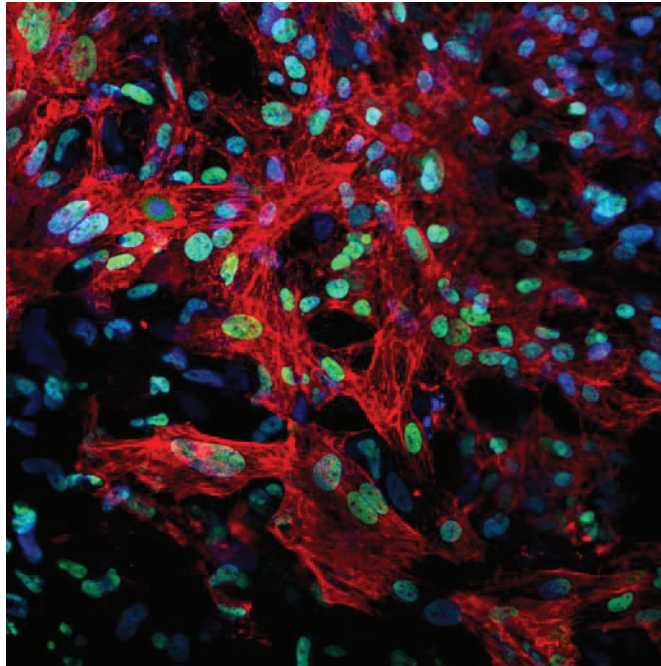

Dr. A. Serés Santamaría
Genetista clínic



Nom del cas: 05cm1517 Imatge: 001	Pacient: ES[11]-EM p11 Carlotip: 48, XY	Data: 24/07/2009
--------------------------------------	--	------------------

Anexo 5

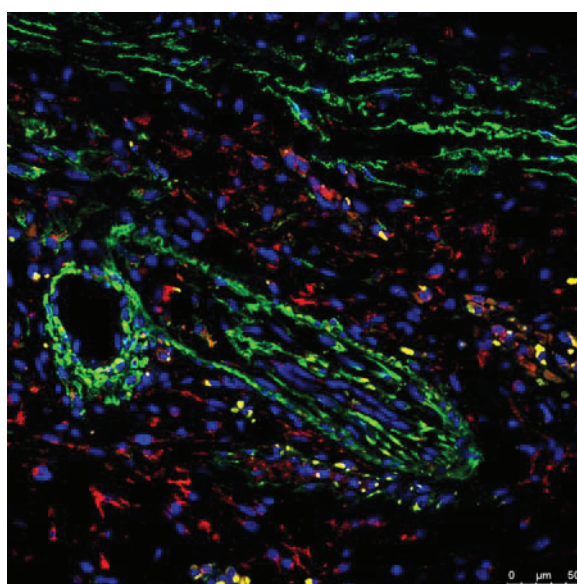
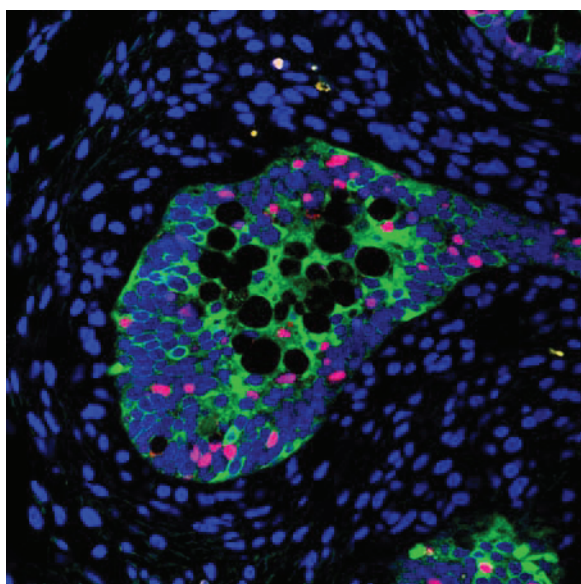
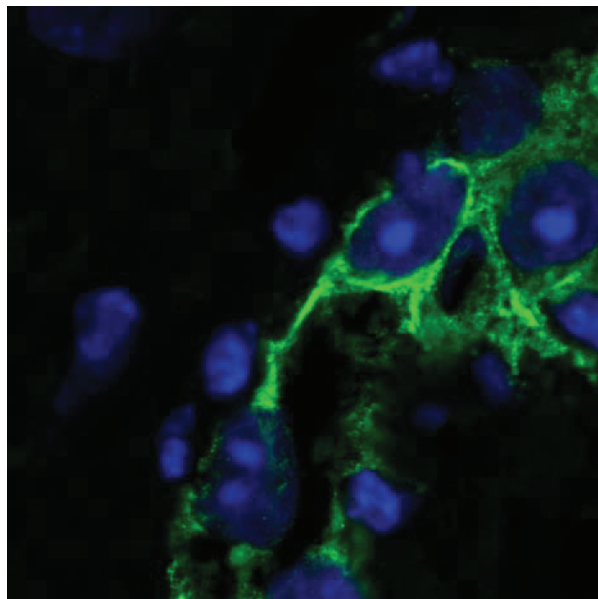
Diferenciación *in vitro* ES[11-EM]



- A. Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para α -actinina y GATA4
- B. Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para α -fetoproteína y FOXA
- C. Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para β -tubulina

Anexo 6

Diferenciación *in vivo* ES[11-EM]



A. Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para Tuji

B. Diferenciación *in vivo* a endodermo: Células positivas para α -fetoproteína y FoxA2

C. Diferenciación *in vivo* a mesodermo: Células positivas para SMA y ASA