

# **ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **BST PBiPS2-SV4F-6** EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES**

## ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Diferenciación *in vivo*

Anexo 4: Cariotipo

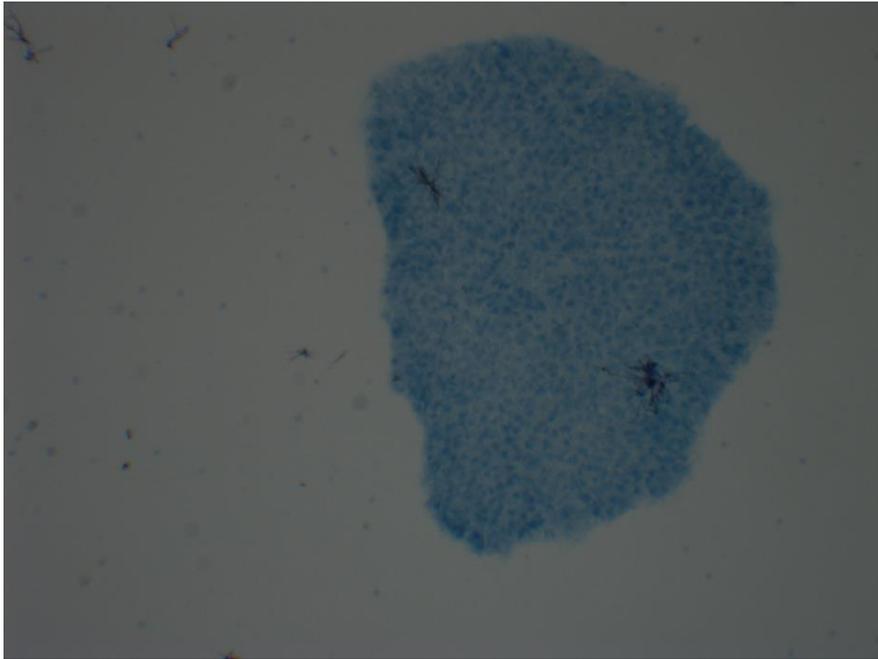
Anexo 5: Resultados microsatélites

Anexo 6: Ausencia de transgenes de reprogramación

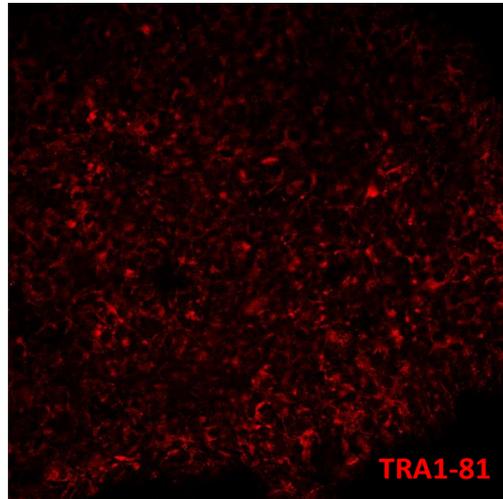
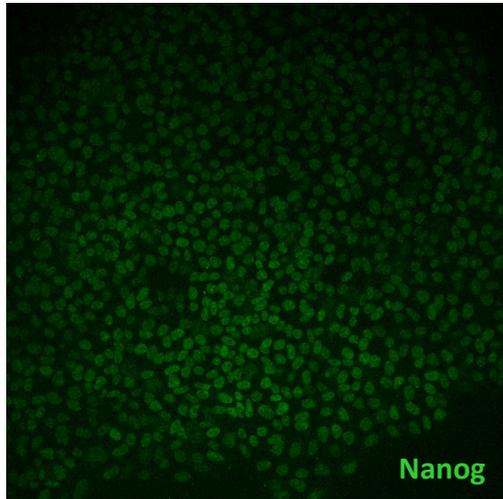
Anexo 7: Resultado test de micoplasma

# **Anexo 1**

## **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**

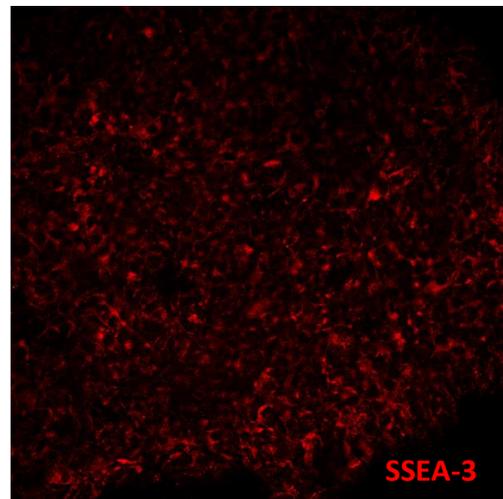
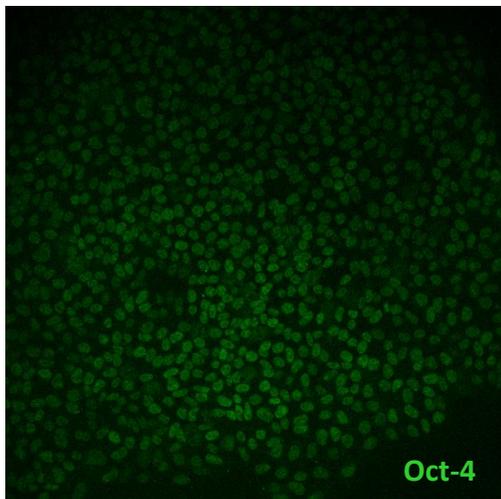


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



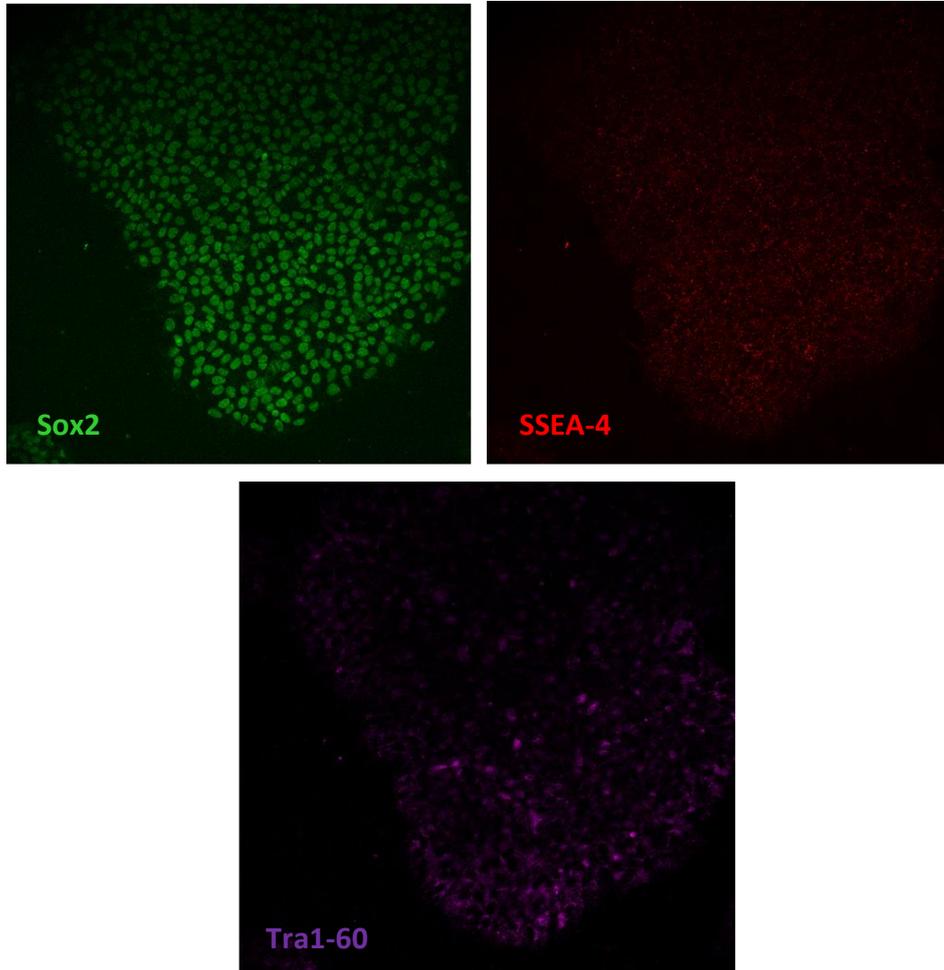
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**

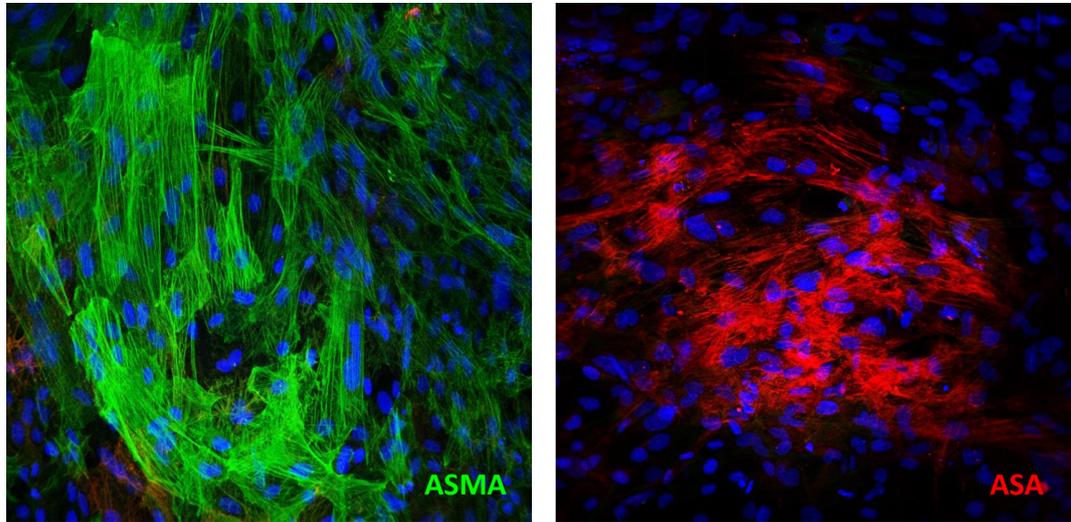


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

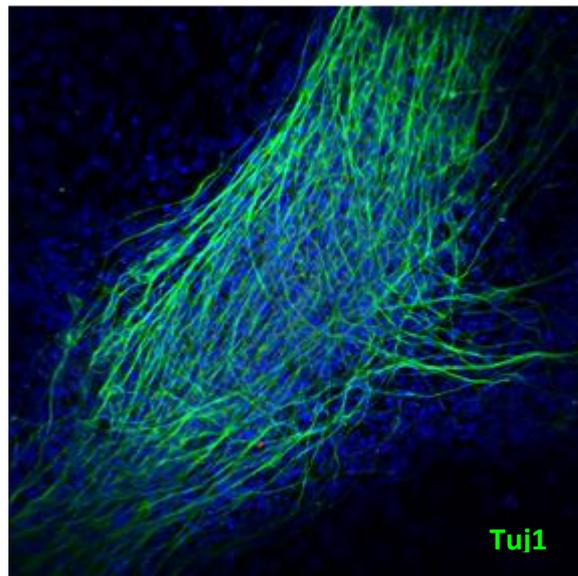
**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

## **Anexo 2**

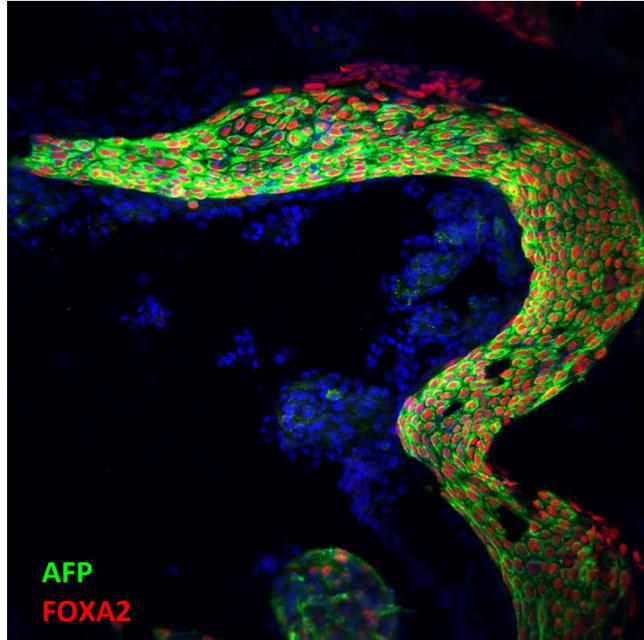
### **Diferenciación *in vitro***



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



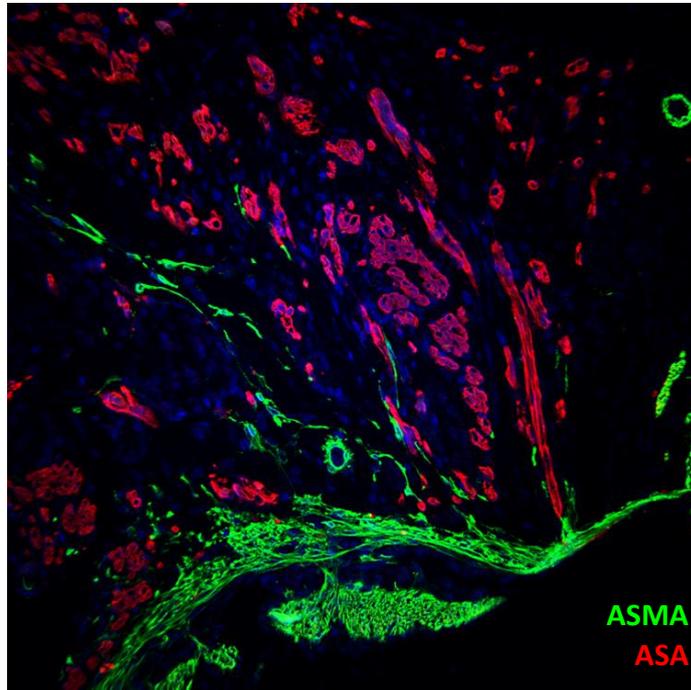
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1**.



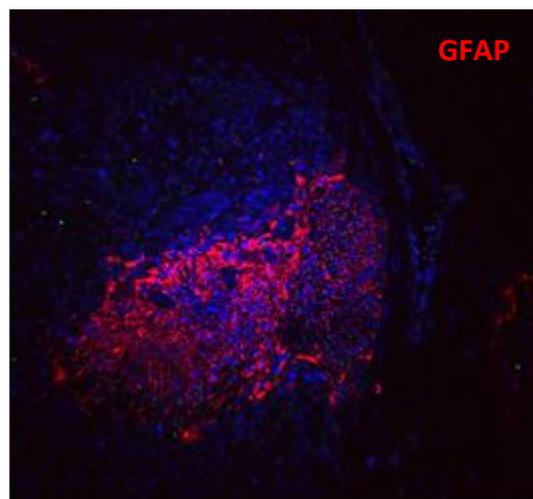
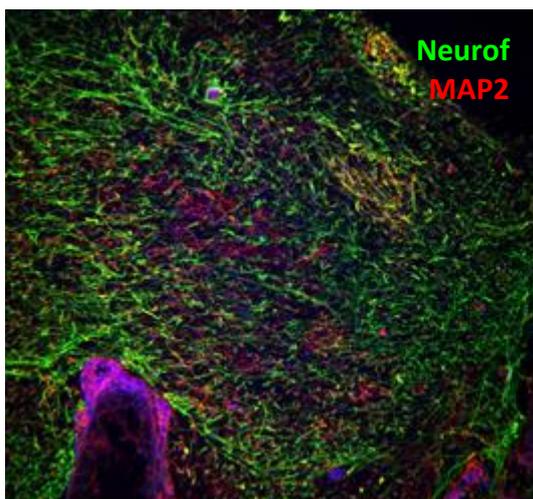
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**

## **Anexo 3**

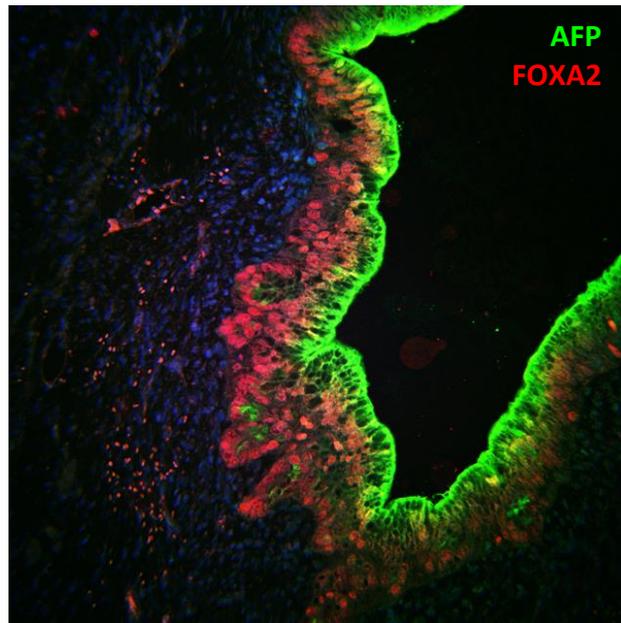
### **Diferenciación *in vivo***



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



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **MAP2**, **GFAP** y **Neurofilamento**.

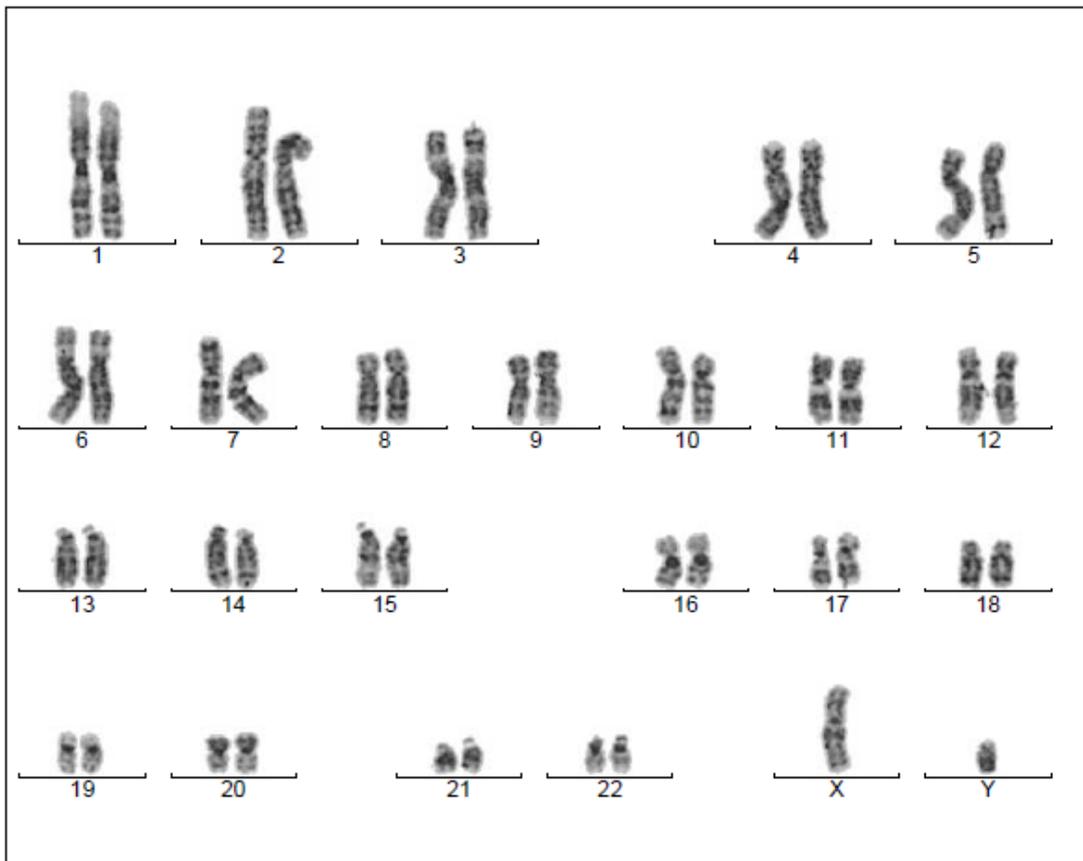


Diferenciación in vivo a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**

## **Anexo 4**

### **Cariotipo**

## Cytogenetic analysis



Case name: 29836

Patient name: BST PBiPS2-Sv4F-6 p12

Specimen type: stem cells

Result: 46,XY

## **Anexo 5**

### **Resultado microsatélites**



Los resultados obtenidos son estudiados mediante el programa informático GeneMapper<sup>®</sup> 3.2. De acuerdo con la información suministrada por Promega<sup>®</sup> sobre su kit de amplificación GenePrint<sup>®</sup> 10 System, estos son los datos correspondientes de los alelos existentes para cada uno de los diferentes loci STR (figura1):



Table 5. The GenePrint<sup>®</sup> 10 System Allelic Ladder Information.

STR Locus	Label	Size Range of Allelic Ladder Components <sup>a,2</sup> (bases)	Repeat Numbers of Allelic Ladder Components
TH01	FL	156–195	4–9, 9.3, 10–11, 13.3
D21S11	FL	203–259	24, 24.2, 25, 25.2, 26–28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36–38
D5S818	JOE	119–155	7–16
D13S317	JOE	176–209	7–15
D7S820	JOE	215–247	6–14 <sup>b</sup>
D16S539	JOE	264–304	5, 8–15
CSF1PO	JOE	321–357	6–15
Amelogenin	TMR	106, 112	X, Y
vWA	TMR	123–171	10–22
TPOX	TMR	262–290	6–13

<sup>a</sup>The length of each allele in the allelic ladder has been confirmed by sequence analysis.

<sup>b</sup>When using an internal lane standard, such as the Internal Lane Standard 600, the calculated sizes of allelic ladder components may differ from those listed. This occurs because different sequences in allelic ladder and ILS components may cause differences in migration. The dye label also affects migration of alleles.

<sup>c</sup>HeLa cells have a microvariant allele 13.3 at the D13S317 locus. This will appear as an off-ladder allele (see [www.ncbi.nlm.nih.gov/strbase/frag\\_D13S317.html#TriL](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/strbase/frag_D13S317.html#TriL)).

Figura 1. Información de la casa comercial Promega sobre la relación entre cada uno de los loci STR amplificados y las repeticiones (en rangos de tamaño y número) que pueden estar presentes en dichos productos de PCR.

## RESULTADOS:

A continuación se indica el código de Biobanco para la muestra analizada y el código origen del ADN procesado de la línea celular:

Código Biobanco	Código origen de ADN
32180106002	BST PBiPS-2-Sv4F-6 p11 (09.03.18)

En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR.

Código origen del ADN de la línea celular	Loci STR analizados									
	AMEL	CSF1PO	D13S317	D16S539	D21S11	D5S818	D7S820	TH01	TPOX	vWA
BST PBiPS-2-Sv4F-6 p11 (09.03.18)	X, Y	11	11, 12	9, 12	29, 32.2	12, 13	9, 10	8, 9	8, 11	17, 18

Granada, a 26 de Marzo de 2018

Laboratorio de Biología Molecular  
 Biobanco del SSPA

## RESULTADOS:

A continuación se indica el código de Biobanco para la muestra analizada y el código origen del ADN procesado de la línea celular:

Código Biobanco	Código origen de ADN
32180078002	BST-PERIS 02

En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR.

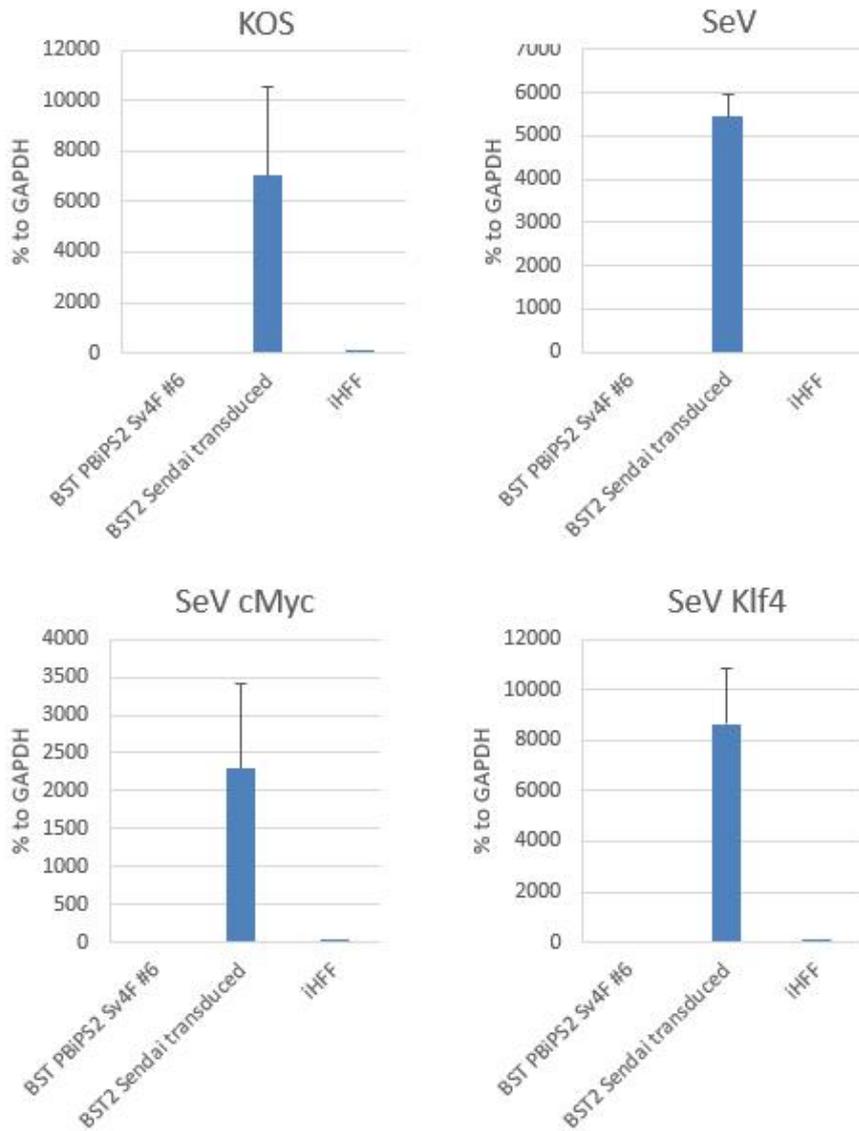
Código origen del ADN de la línea celular	Loci STR analizados									
	AMEL	CSF1PO	D13S317	D16S539	D21S11	D5S818	D7S820	TH01	TPOX	vWA
BST-PERIS 02	X, Y	11	11, 12	9, 12	29, 32.2	12, 13	9, 10	8, 9	8, 11	17, 18

Granada, a 19 de Febrero de 2018

Laboratorio de Biología Molecular  
Biobanco del SSPA

## **Anexo 6**

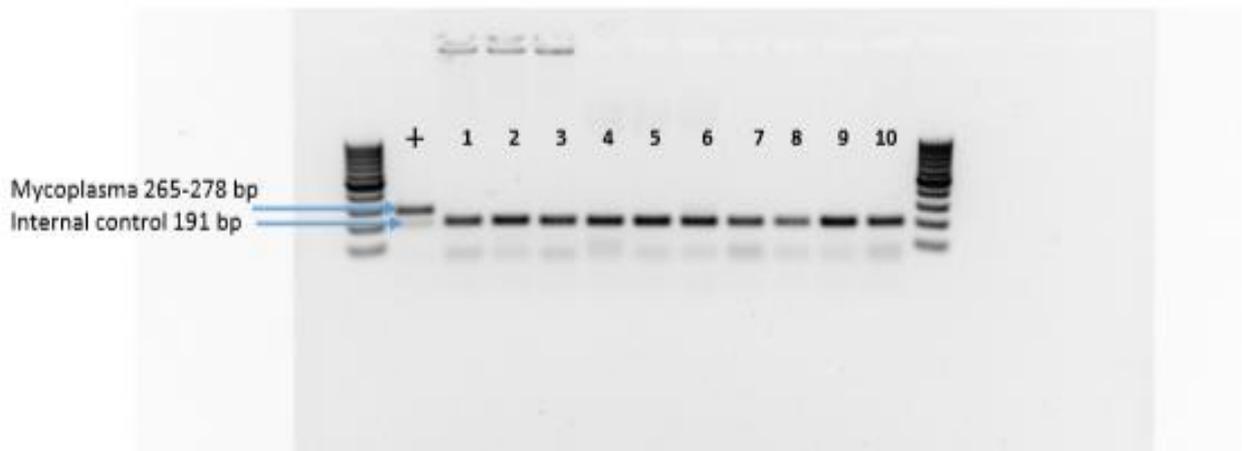
### **Ausencia de transgenes de reprogramación**



Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por q-RT-PCR de la expresión de mRNAs de los transgenes en las iPSC generadas y en células control tras una semana de transducción. Se muestra expresión relativa a GAPDH.

## **Anexo 7**

### **Resultado test de micoplasma**



1. BST PBiPS 2-Sv4F-6, p14