

# ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [GD]FiPS-4F-21c EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES.

## ANEXOS

Anexo 1: Informe independiente del análisis microbiológico [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 2: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 3: Cariotipo [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 4: Diferenciación *in vitro* [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 5: Diferenciación *in vivo* [GD]FiPS-4F-21c

Anexo 6: Genotipación de la línea [GD]FiPS-4F-21c



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

## Anexo 1

# Informe independiente del análisis microbiológico

Peticció : 88930  
NO INDUSTRIA  
MUTUA

H: //GL59184306

C. MEDICINA REGENERATIVA DE BA  
D.N.I. :  
Edat : T.F.: Global  
Data extracció : 06-11-12

[GD] FiPS 4F-21c, p28

[GD] FiPS 4F-21c p28

## MYCOPLASMES/UREAPLASMES UROGENITALS : CULTIU EN MOSTRA

Mostra : MOSTRA

RESULTAT ..... No s'observa creixement

### CULTIU

Tècnica : Cultiu en medis de enriquiment i selectius.

MOSTRA : MOSTRA

RESULTAT ..... No s'observa creixement

### CULTIU MICOLÒGIC

MEDI D'AÏLLAMENT I CULTIU : Agar Sabouraud amb Gentamicina i Cloranfenicol.

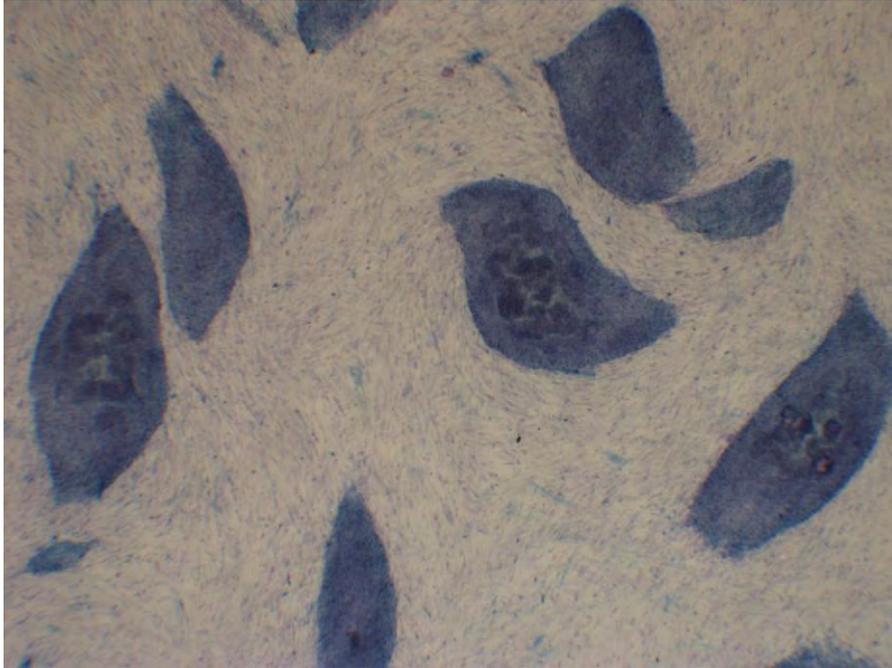
MOSTRA : MOSTRA

RESULTAT ..... No s'observa creixement

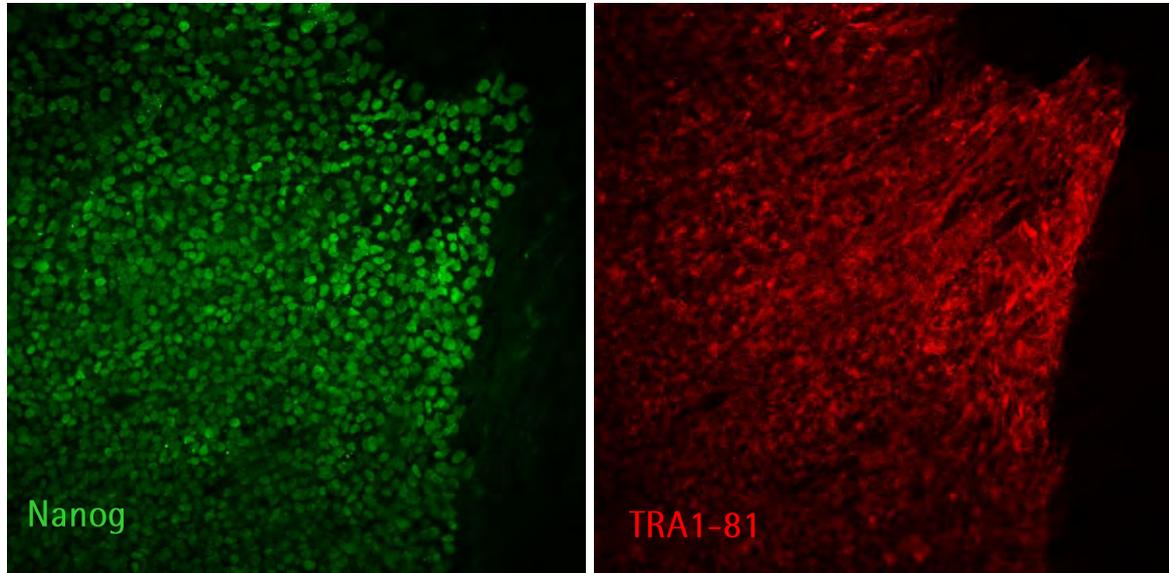
Responsables de Validació : AUTO, NMB.  
Director : Dr. J.I. HORNOS I VILA  
Barcelona, 28 de novembre de 2012

## Anexo 2

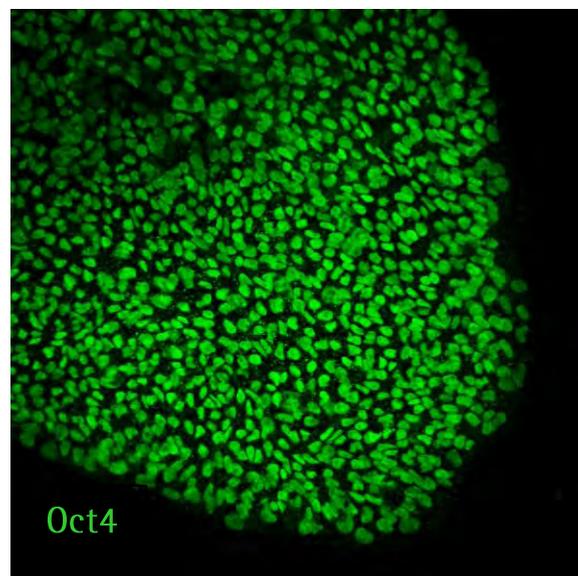
### Fenotipo. Marcadores de pluripotencia [GD]FiPS-4F-21c



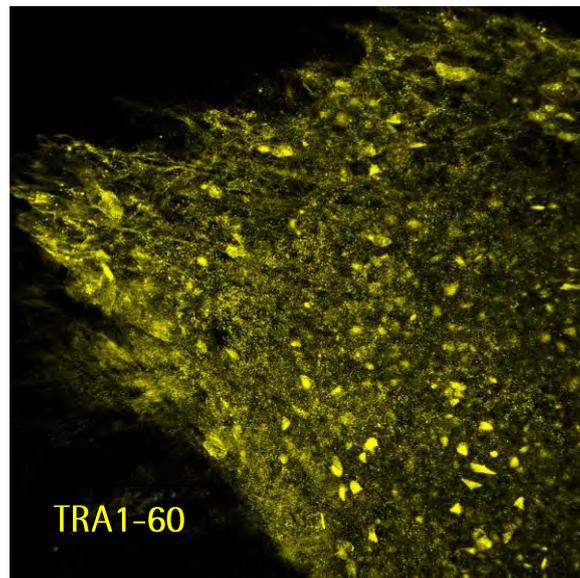
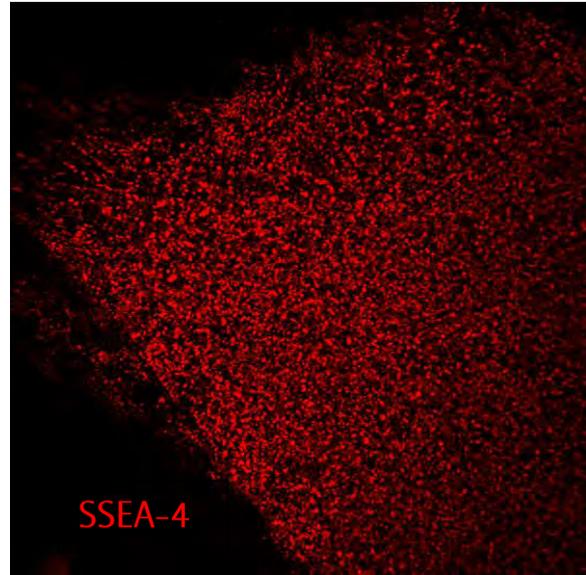
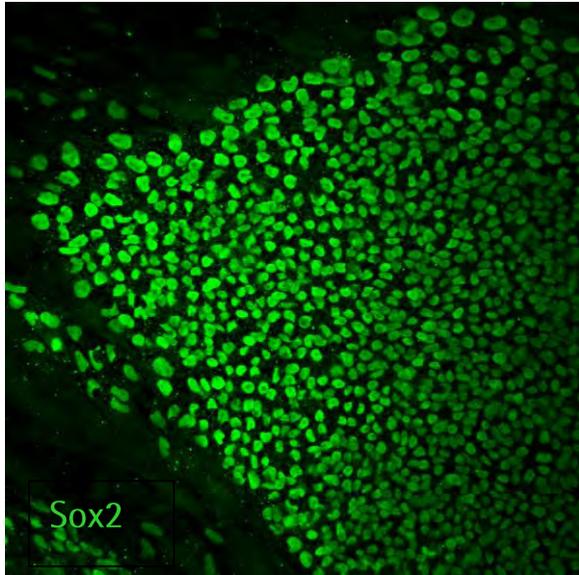
Actividad fosfatasa alcalina de la línea de células pluripotentes [GD]FiPS-4F-21c



Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [GD]FiPS-4F-21c para Nanog y TRA1-81



Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [GD]FiPS-4F-21c para Oct-4



Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [GD]FiPS-4F-21c para Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 3  
Cariotipo [GD]FiPS-4F-21c

Nombre muestra: [GD]FiPS-4F-21c

Fecha: Barcelona, 02/05/2013

**ESTUDIO CITOGENÉTICO**

El resultado obtenido en el estudio citogenético realizado en la muestra [GD]FiPS-4F-21c es:

**-Resultado citogenético: 46, XX, inv(12)**

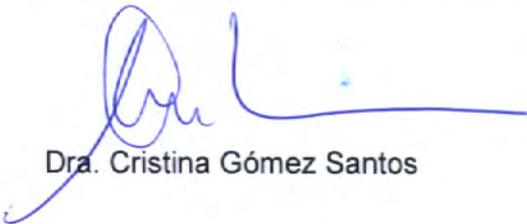
Se han estudiado un total de **20 metafases** procedentes de cultivos celulares de la muestra.

Comentario:

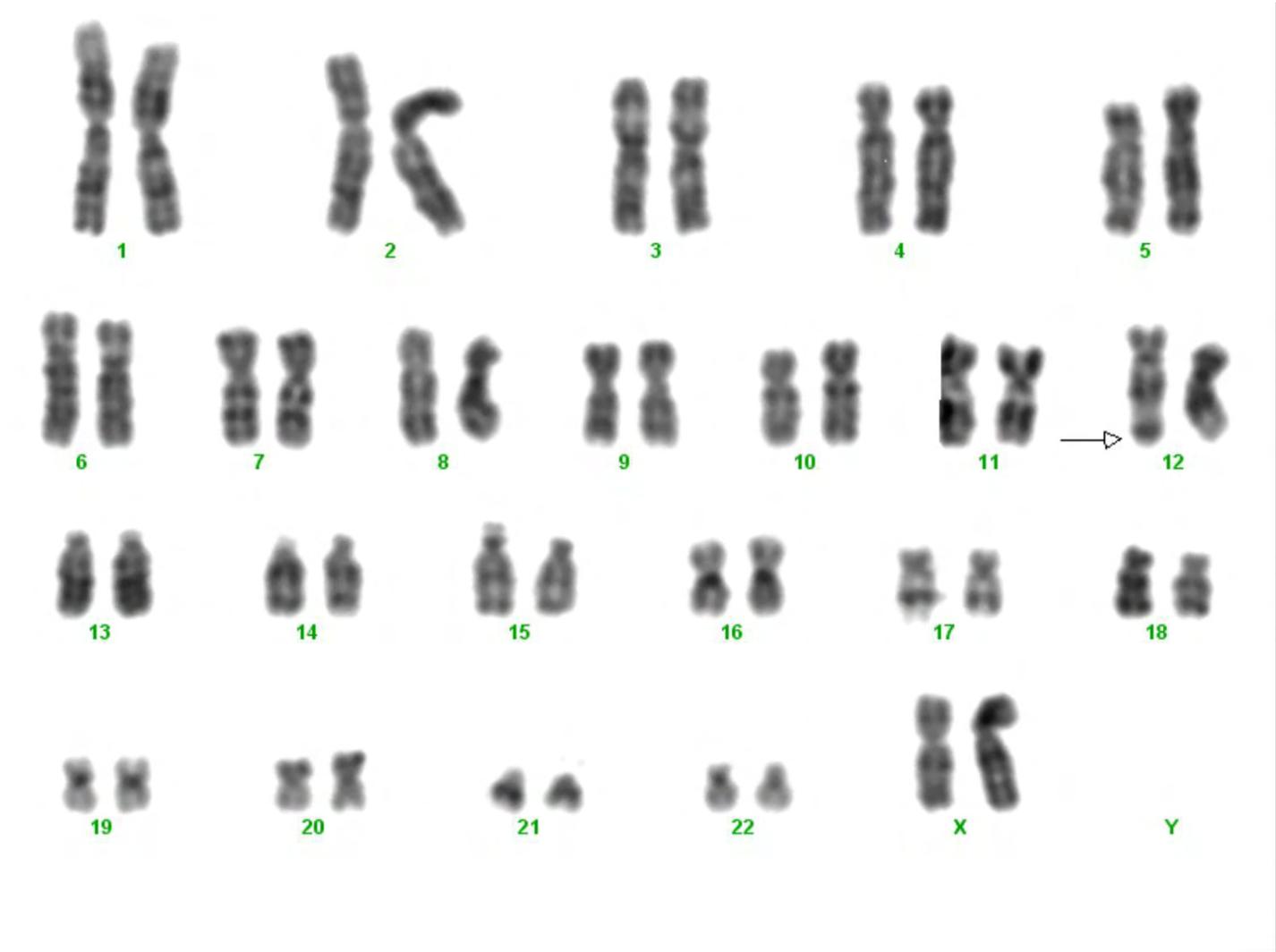
En el estudio citogenético realizado mediante la técnica de bandas G con 150bjh se ha observado una inversión del cromosoma 12 en el 100% de las metafases analizadas.

Observaciones:

El resultado citogenético no excluye la presencia de anomalías no detectables debido a limitaciones propias de la técnica, como pueden ser: mosaicos de baja frecuencia y alteraciones estructurales de medida pequeña (microdeleciones y microduplicaciones). Los estudios citogenéticos tienen una fiabilidad superior al 99%.

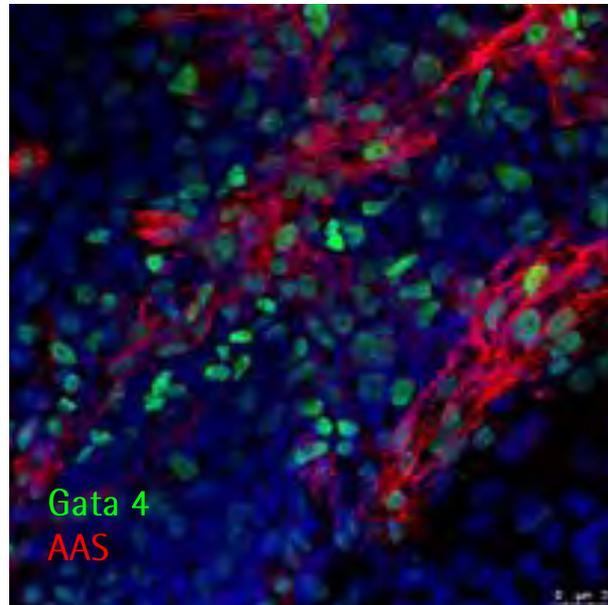


Dra. Cristina Gómez Santos

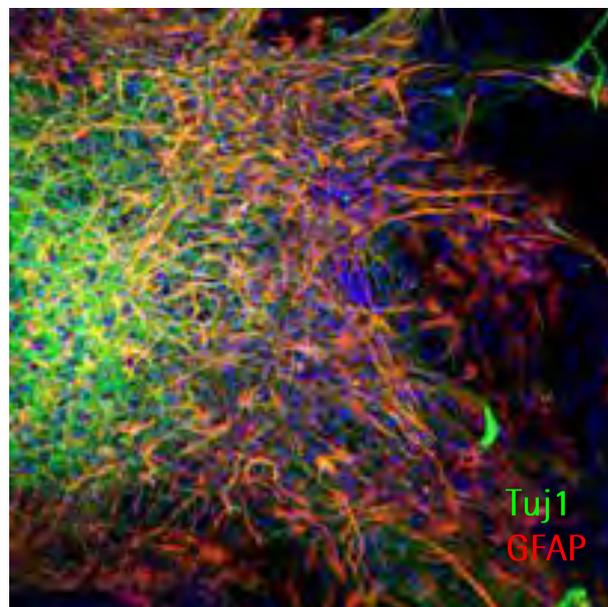


## Anexo 4

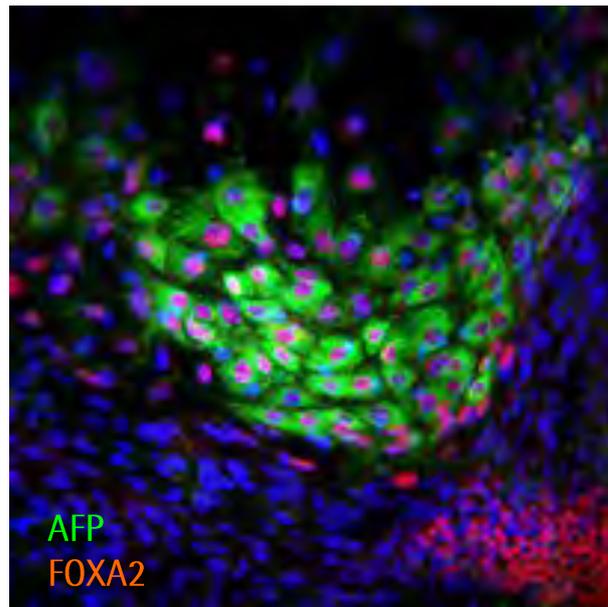
### Diferenciación *in vitro* [GD]FiPS-4F-21c



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para Gata4 y AAS



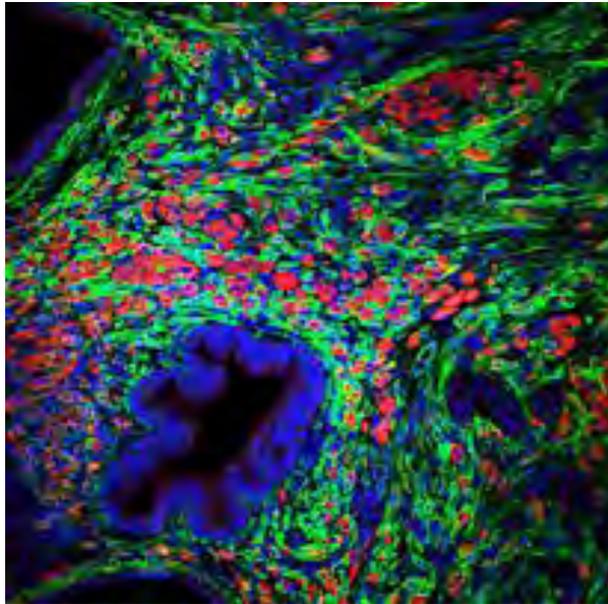
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para Tuj1 y GFAP



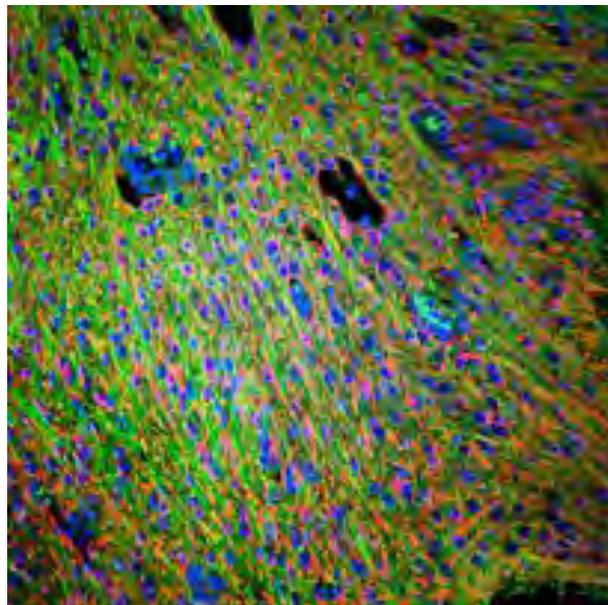
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para AFP y FOXA2

## Anexo 5

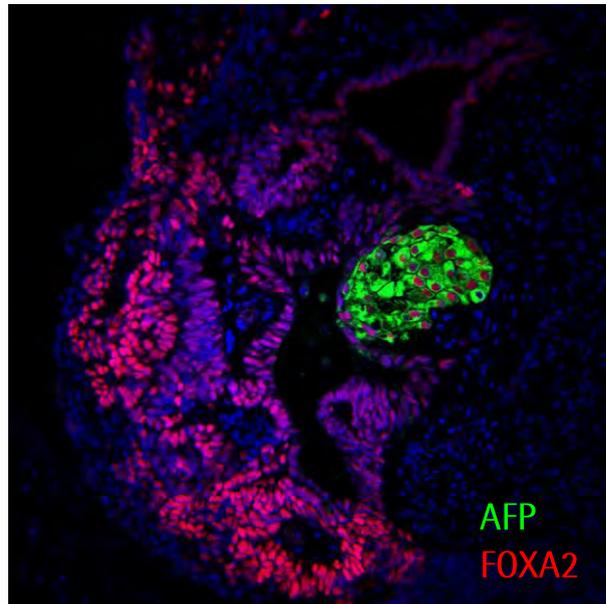
### Diferenciación *in vivo* [GD]FiPS-4F-21c



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



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para TUJ1 y GFAP.



Diferenciación *in vivo* a endodermo: Células positivas para  $\alpha$ -fetoproteína y FOXA2

## Anexo 6

### Genotipación [GD]FiPS-4F-21c

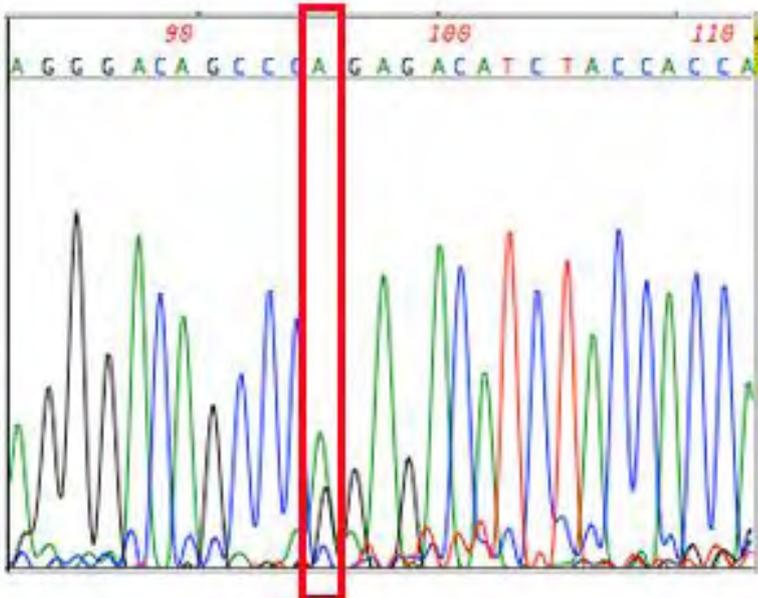
## GENOTYPING GD-FiPS-4F-21c

### SEQUENCING RESULT:

Sequence of PCR product on exon 7 of human GBA1

Forward primer

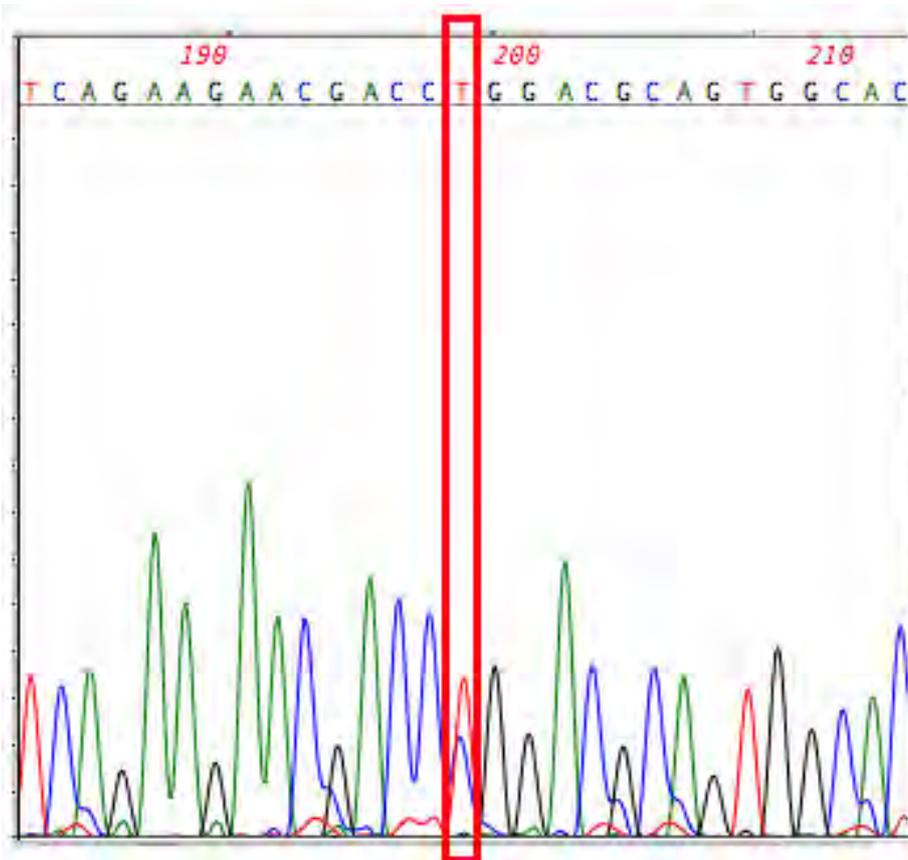
**ATCACCGAGCCCTGCAGTT**GGCCCAGCGTCCCGTTTCACTCCTTGCCAGCCCCTGGACA  
TCACCCACTTGGCTCAAGACCAATGGAGCGGTGAATGGGAAGGGGTCACTCAAGGGACA  
GCCC**(G/A)**GAGACATCTACCACCAGACCTGGGCCAGATACTTTGTGAA



Sequence of PCR product on exon 11 of human GBA1

Forward primer

**CGATGCAGAAAAGCAGGGT**AGTGCCAGCAGCATGGCTCCAGGCCTAGAGAGCCAGGG  
CAGAGCCTCTGCAGGAGTTATGGGGTGGGTCCGTGGGTGGGTGACTTCTTAGATGAGGG  
TTTCATGGGAGGTACCCCGAGGGACTCTGACCATCTGTTCCACATTCAGCAAGTTCATTC  
CTGAGGGCTCCCAGAGAGTGGGGCTGGTTGCCAGTCAGAAGAACGACC(**T/C**)GGACGCA  
GTGGCACTGATGCATCCCGATGGCTCTGCTGTTGTGGTTCGTGCTAAACCGGTGAGGGCAA  
TGGTGAGGTCTGGGAAGTGGGCTGAAGACAGCGTTGGGGGCCTTGGCAGGATCACACTC  
TCAGCT



Result:

Point mutations **are heterozygotically** observed on GD-FiPS 21c (red Square).

Primers used for sequencing are marked in yellow.