



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **CANVAS FiPS39-Ep6F-5** 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

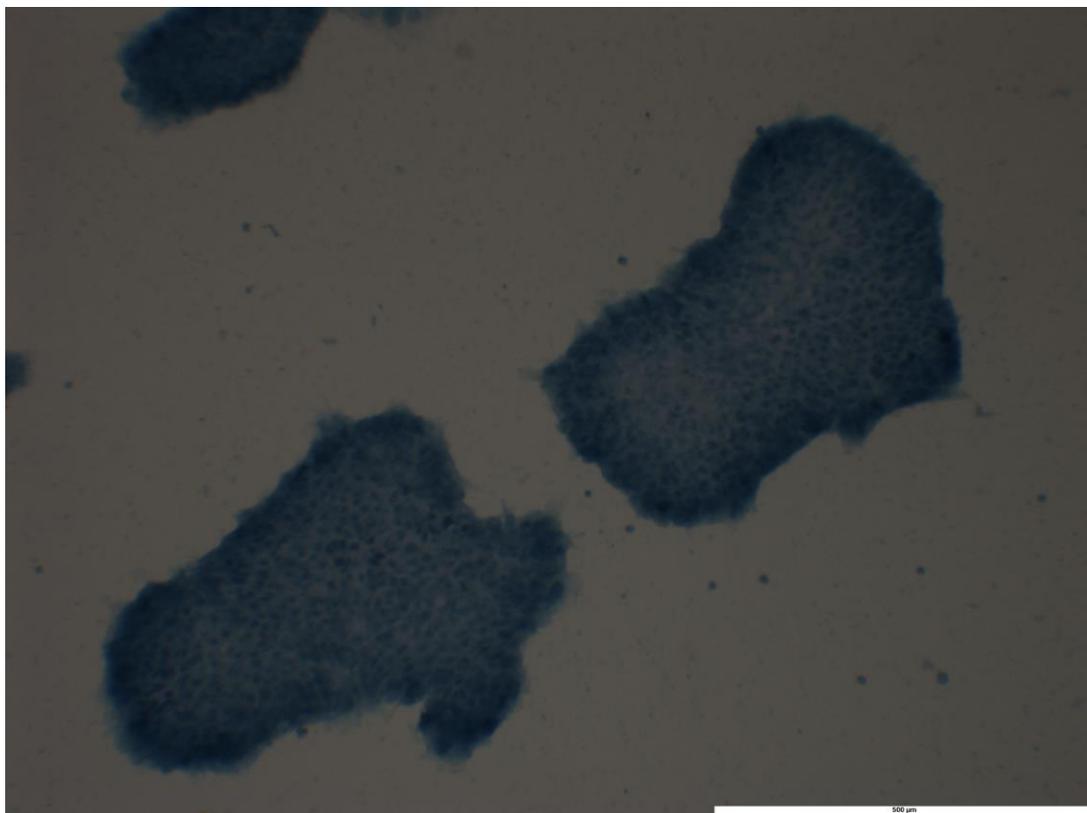
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

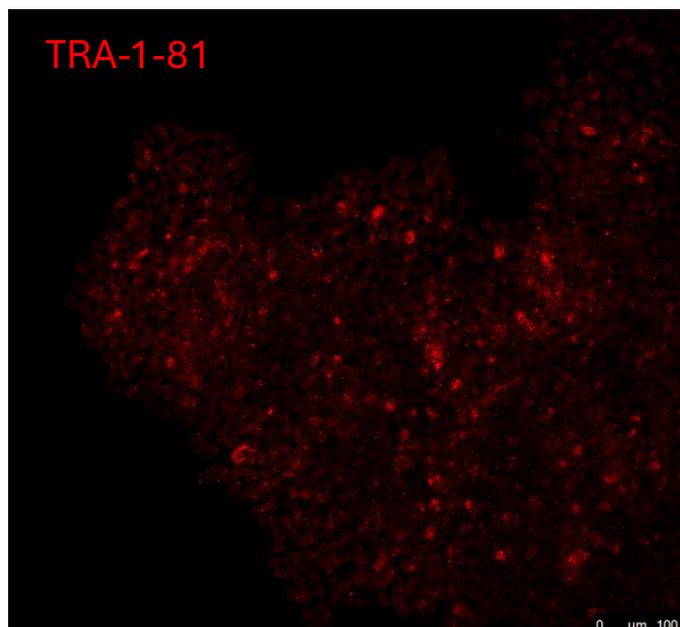
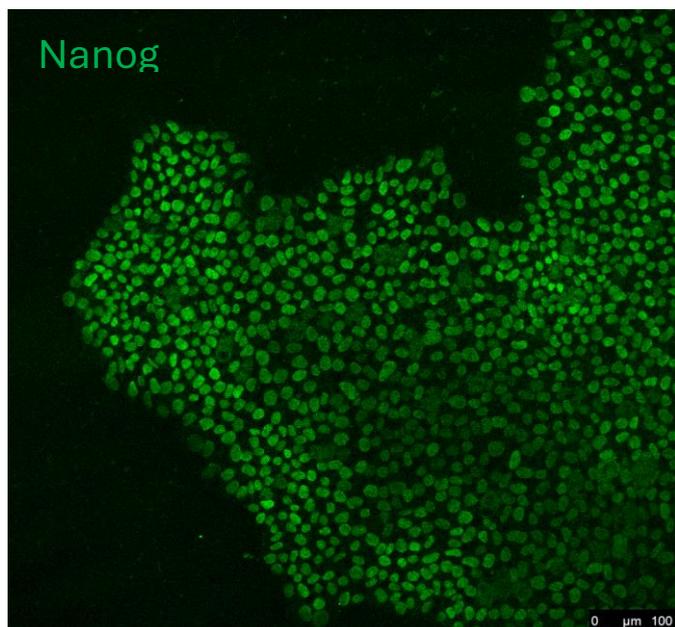


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

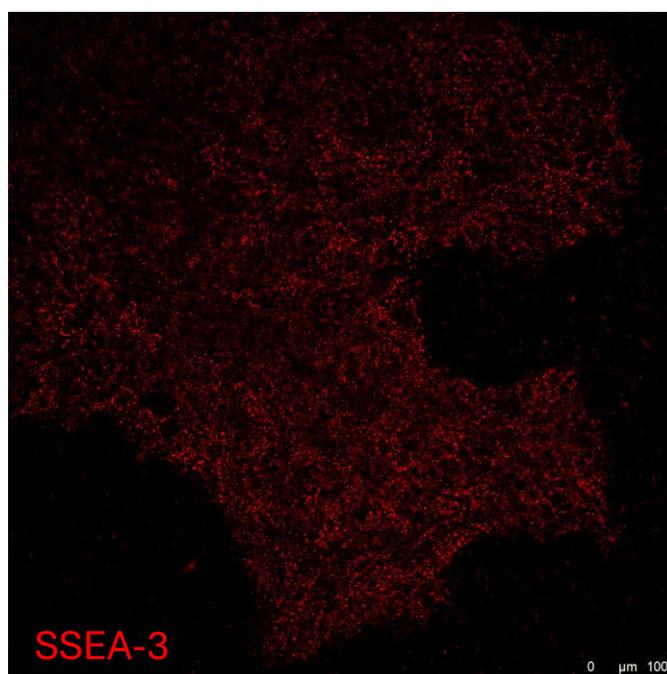
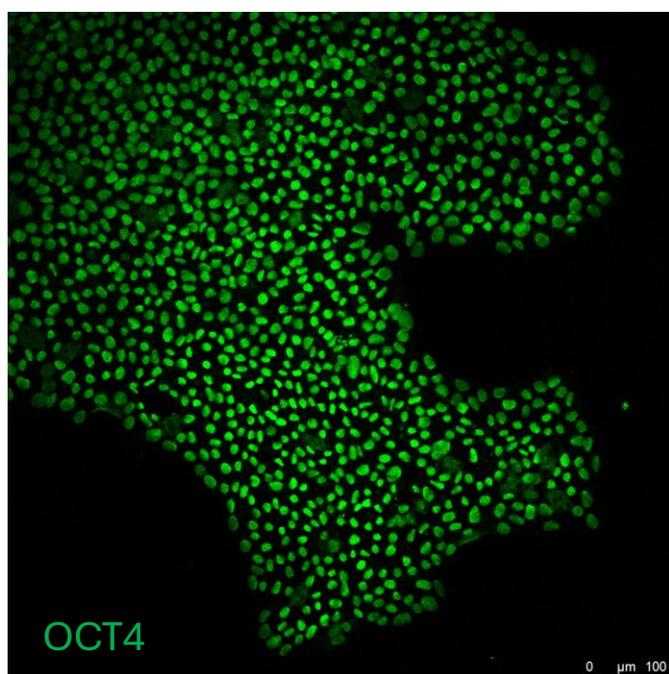


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



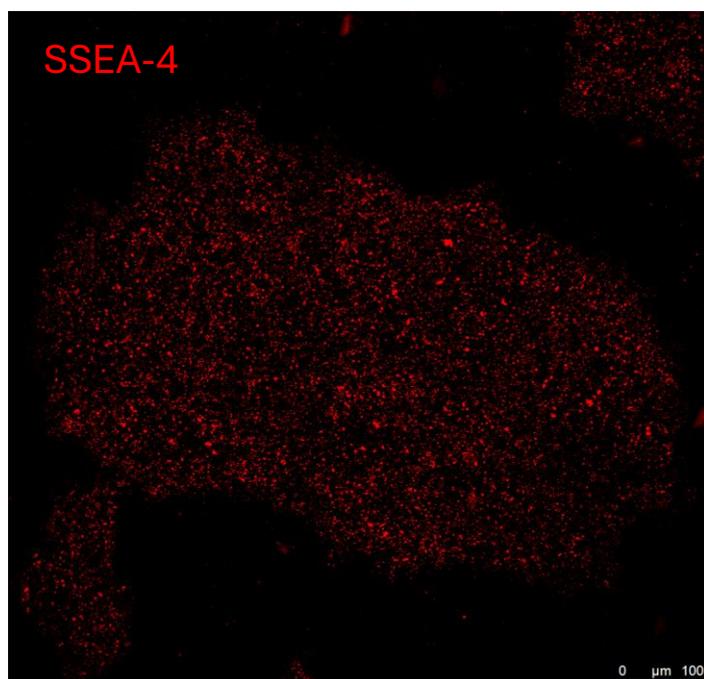
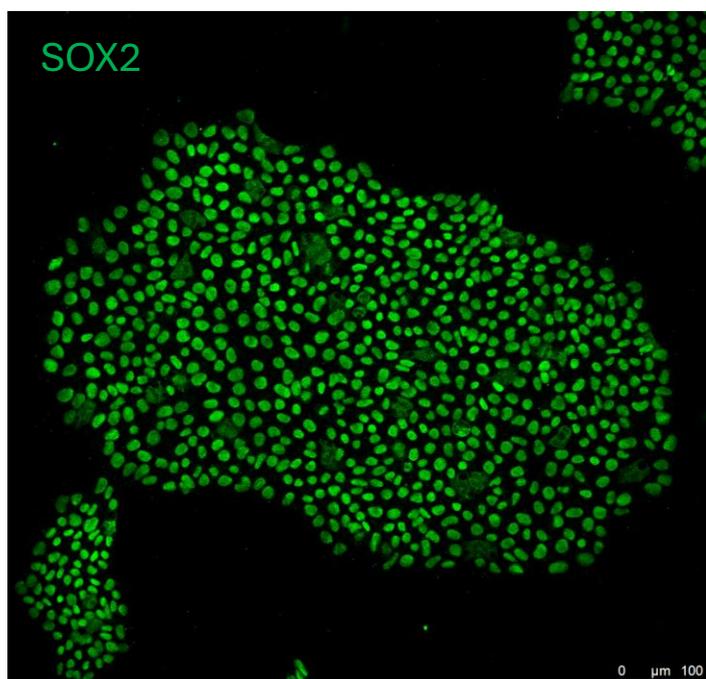
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



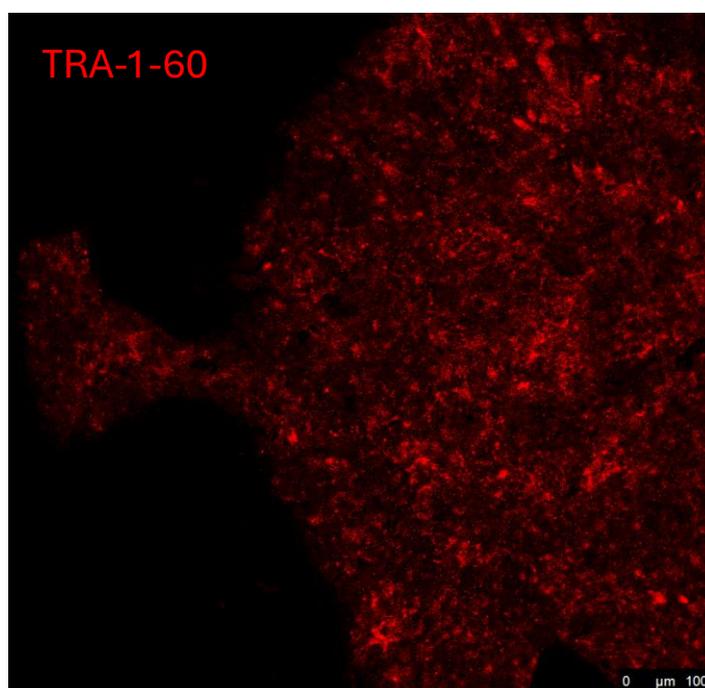
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4

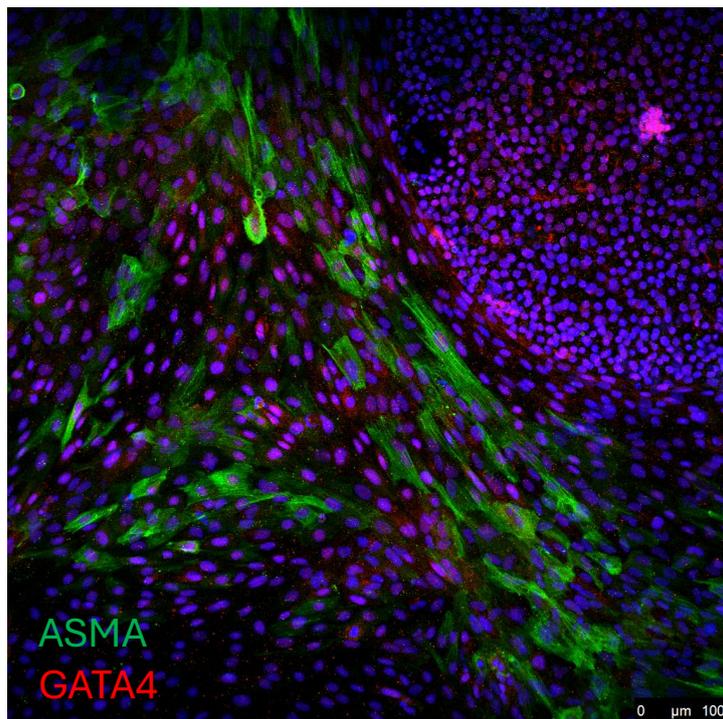


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **TRA1-60**

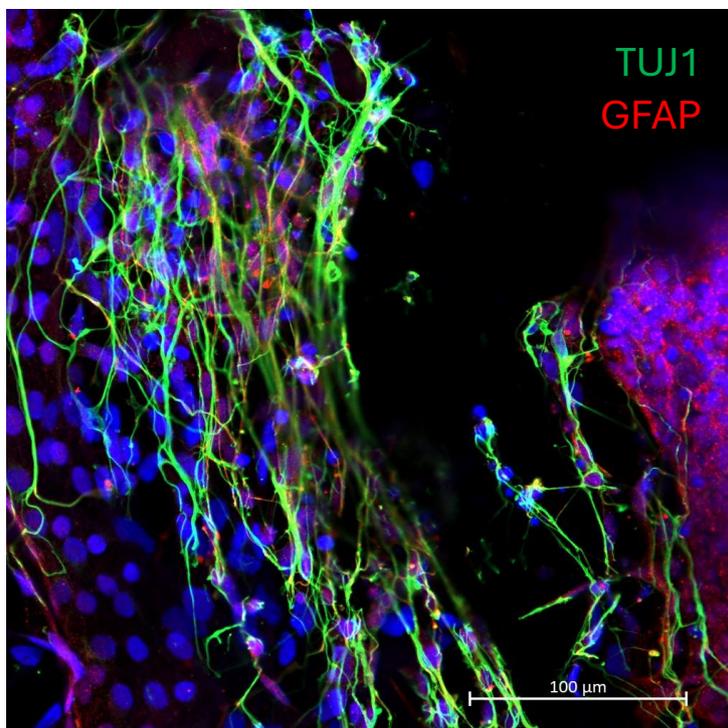


Anexo 2

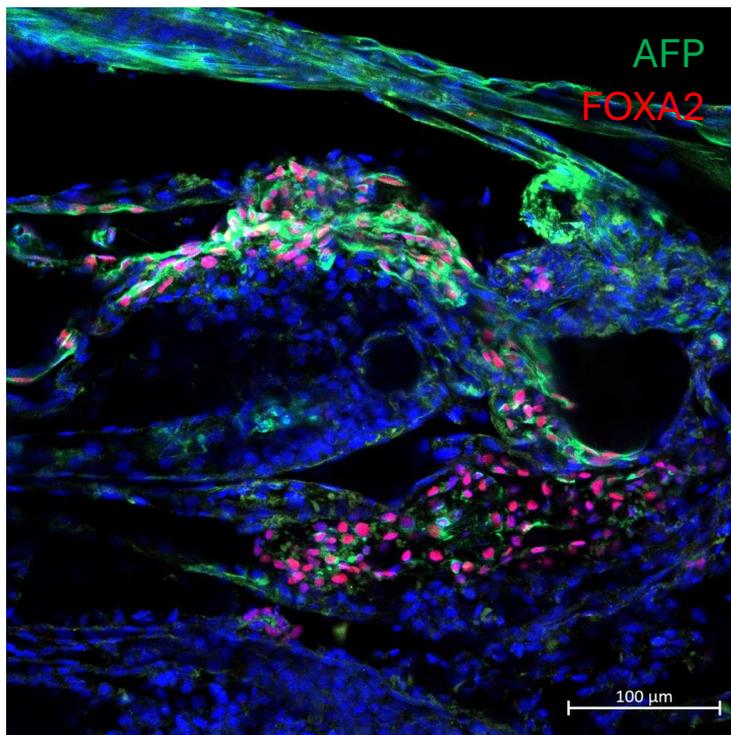
Diferenciación *in vitro*



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y GATA4**



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



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



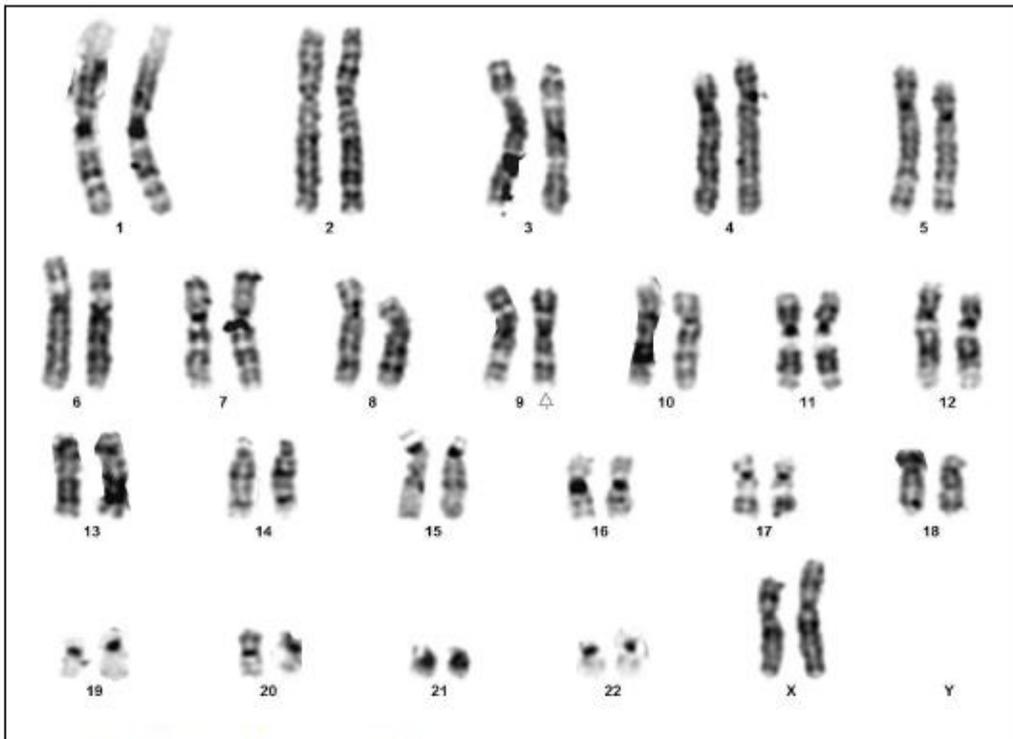
Anexo 3

Cariotipo

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 40330862
Name: CANVAS FiPS39-Ep6F-5 p12
NHC: CT0716

Department: IDIBELL
Date: 2/9/2024
Sample: CM



Case: 40330862 Slide: 2 Cell: 7

Result: 46,XX,inv(9)(p12q13)



Anexo 4

Resultado microsátélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra: **Identificació** **ID Ambar** **Tipus de mostra**
 CANVAS FIPS39-EP6F-5 P14 1335106 Extracte DNA

Descripció de l'estudi

L'estudi de consisteix en l'anàlisi de microsatèl·lits o "short tandem repeats" (STR) de DNA procedent determinades línies cel·lulars. El procediment seguit ha estat el següent:

. PCR - Amplificació de 15 regions de DNA (STR- short tandem repeats) amb els Kit de Genotipat AmpFLSTR® Identifier® Plus PCR Amplification Kit. La combinació d'aquestes 15 regions constitueix el perfil genètic (impressió digital genètica)

. Electroforesi capil·lar – Lectura del perfil genètic de la mostra.

. Software d'anàlisi – Assignació del perfil genètic.

Resultats

Marcadors Genètics	Localització cromosòmica	Al·lels mostra 1335106	
D8S1179	8	10	12
D21S11	21q11.2-q21	28	30
D7S820	7q11.21-22	8	11
CSF1PO	5q33.3-34	12	13
D3S1358	3p	16	18
TH01	11p15.5	9	9
D13S317	13q22-31	8	12
D16S539	16q24-qter	12	13
D2S1338	2q35-37.1	20	24
D19S433	19q12-13.1	15	15
VWA	12p12-pter	16	18
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	12	14
D5S818	5q21-31	9	12
FGA	4q28	22,2	26
AMELOGENINA*	X: p22.1-22.3- Y: p11.2	X	X

*Amelogenina: Resultat al·lel relatiu al sexe cromosòmic: XX (sexe femení); XY (sexe masculí)

L'Hospitalet del Llobregat, 19/03/2024



Dr. J.V.Martínez Mas
 Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació FB CNK22939, P4, 0.2M CELLS, 29.09.23	ID Ambar 1221778	Tipus de mostra Extracte DNA
----------------	---	----------------------------	--

Descripció de l'estudi

L'estudi de consisteix en l'anàlisi de microsatèl·lits o "short tandem repeats" (STR) de DNA procedent de determinades línies cel·lulars. El procediment seguit ha estat el següent:

- . PCR - Amplificació de 15 regions de DNA (STR- short tandem repeats) amb els Kit de Genotipat AmpFLSTR® Identifier® Plus PCR Amplification Kit. La combinació d'aquestes 15 regions constitueix el perfil genètic (impressió digital genètica)
- . Electroforesi capil·lar – Lectura del perfil genètic de la mostra.
- . Software d'anàlisi – Assignació del perfil genètic.

Resultats

Marcadors Genètics	Localització cromosòmica	Al·lels mostra 1221778	
D8S1179	8	10	12
D21S11	21q11.2-q21	28	30
D7S820	7q11.21-22	8	11
CSF1PO	5q33.3-34	12	13
D3S1358	3p	16	18
TH01	11p15.5	9	9
D13S317	13q22-31	8	12
D16S539	16q24-qter	12	13
D2S1338	2q35-37.1	20	24
D19S433	19q12-13.1	15	15
VWA	12p12-pter	16	18
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	12	14
D5S818	5q21-31	9	12
FGA	4q28	22,2	26
AMELOGENINA*	X: p22.1-22.3- Y: p11.2	X	X

*Amelogenina: Resultat al·lel relatiu al sexe cromosòmic: XX (sexe femení); XY (sexe masculí)

L'Hospitalet del Llobregat, 09/10/2023



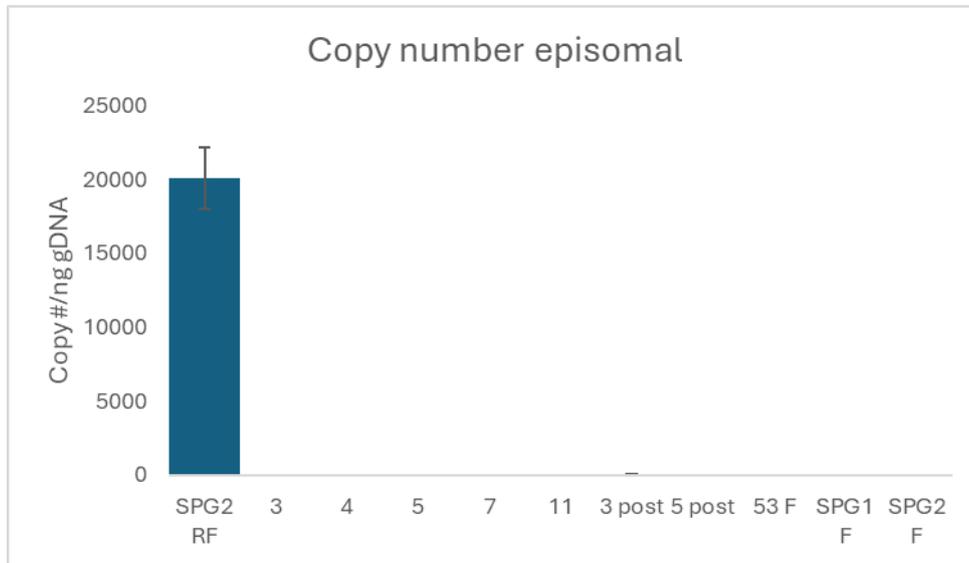
Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

Anàlisi de microsatèl·lits en la línia de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.

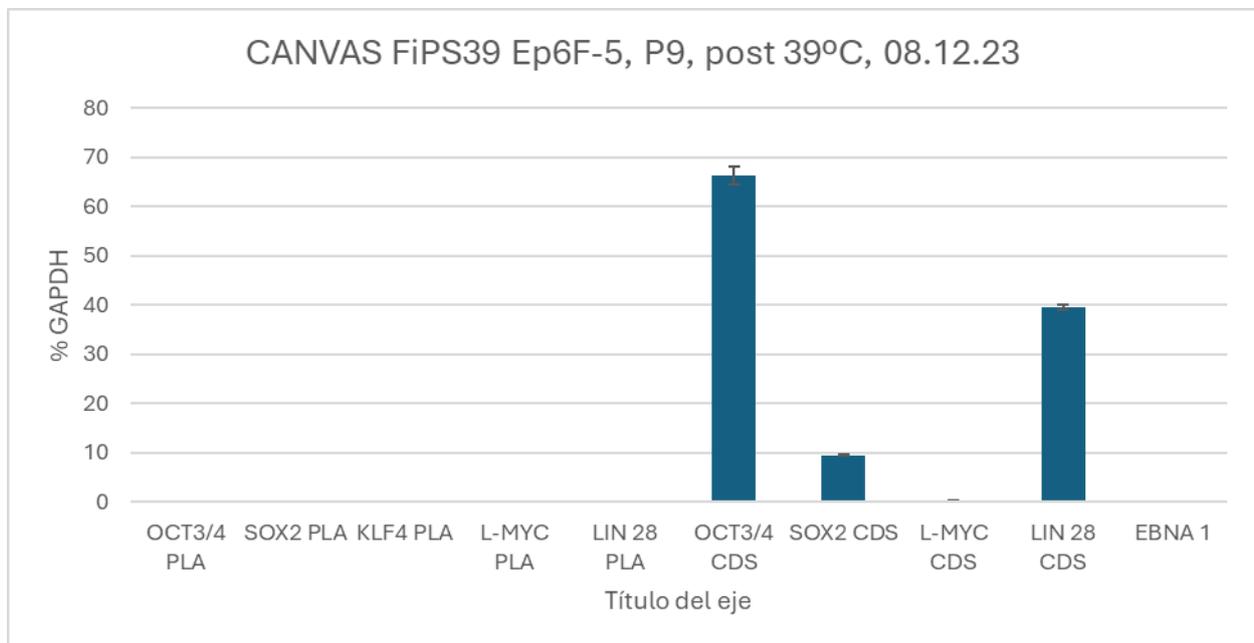


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en diversos clones de la línea de iPSC, en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG1F y SPG2F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección (**SPG2-RF**)



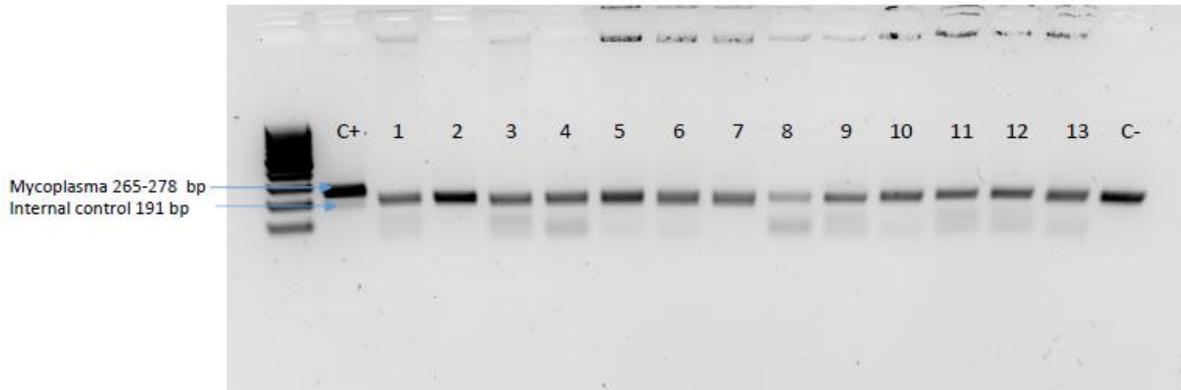
Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **CANVAS FiPS39-Ep6F-5**



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 17/01/2024



6. CANVAS_FiPS39_Ep6F-3 p10

7. CANVAS_FiPS39_Ep6F-5 p9