



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **Hz 33-14-1 CBiPS6-Sv4F-H6** 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

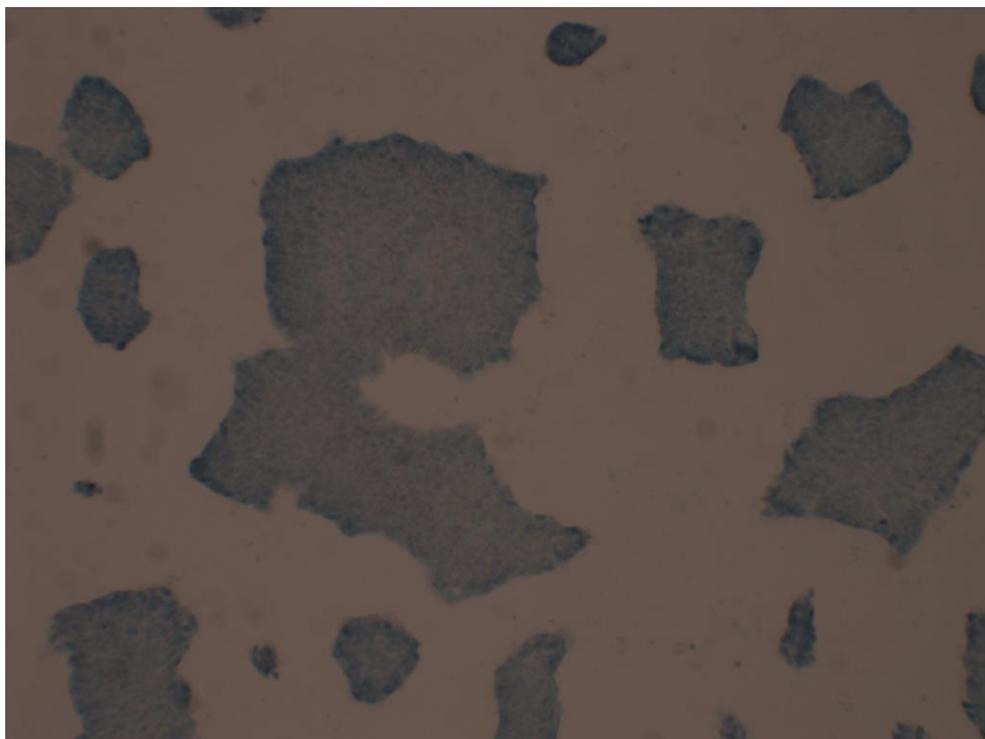
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

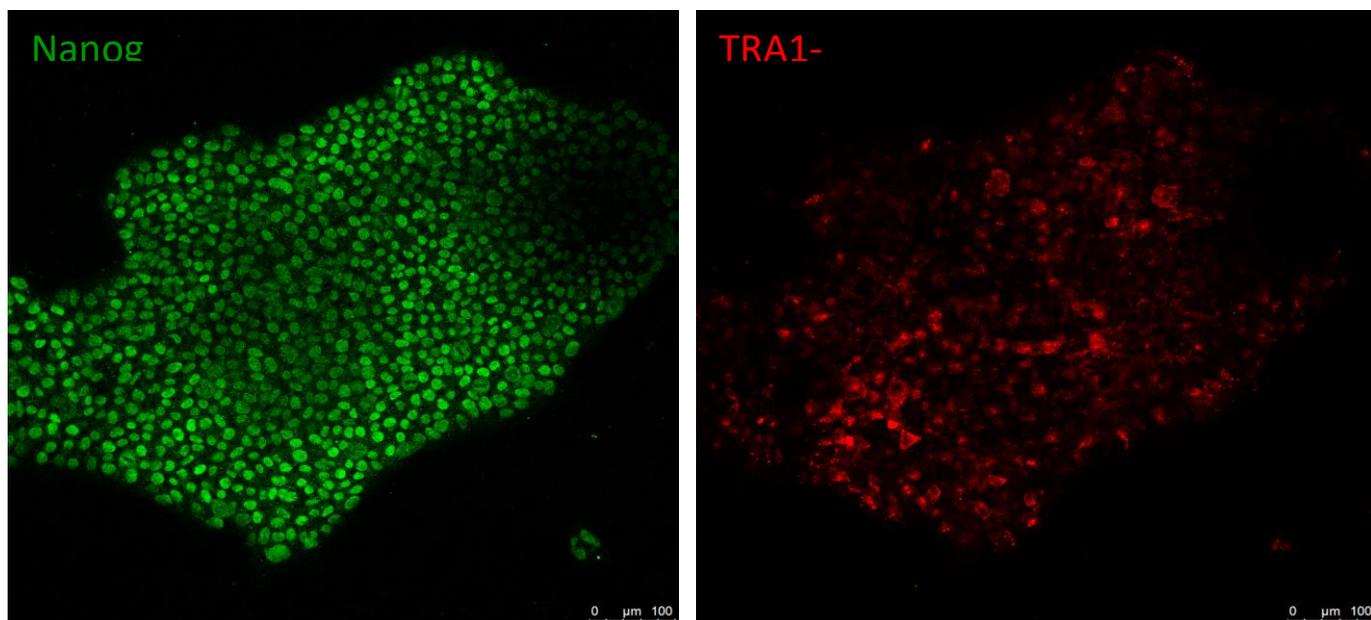


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

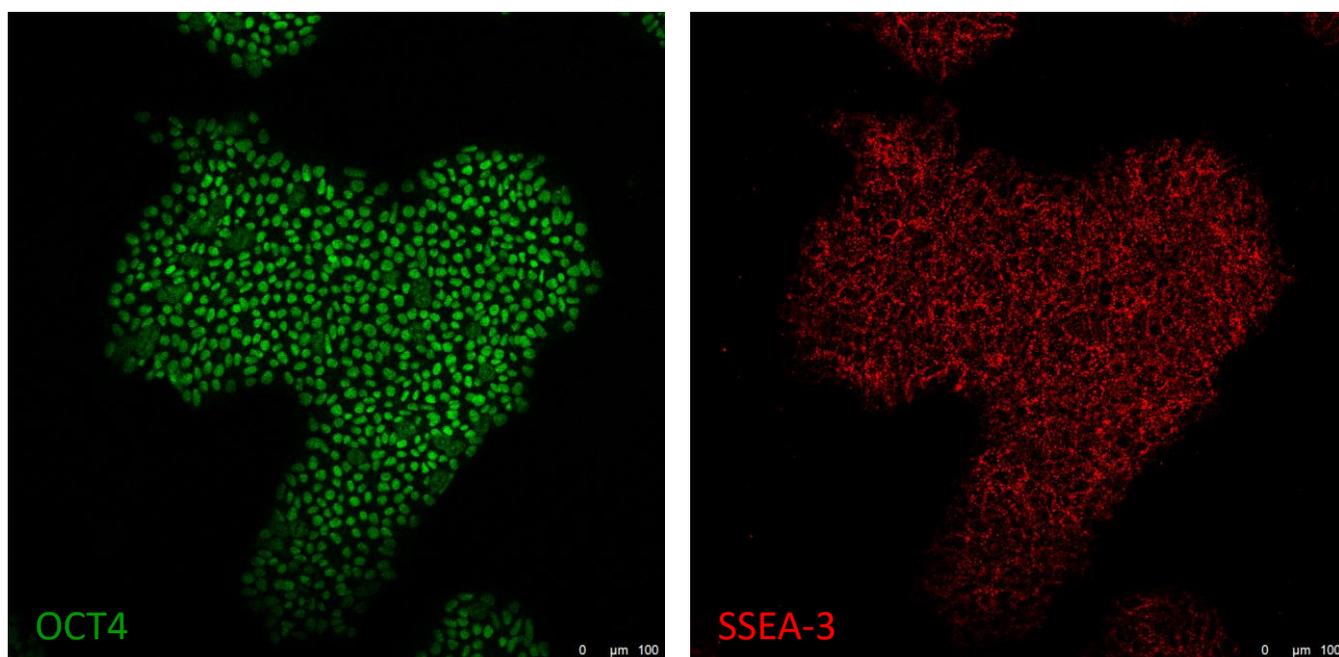


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



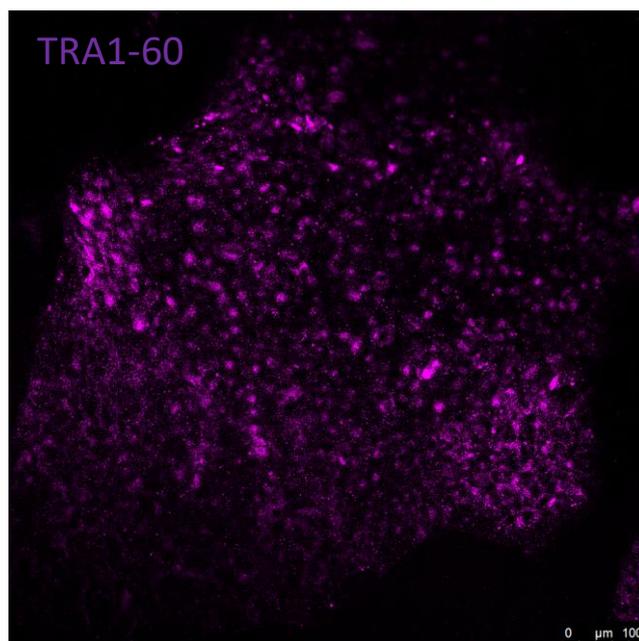
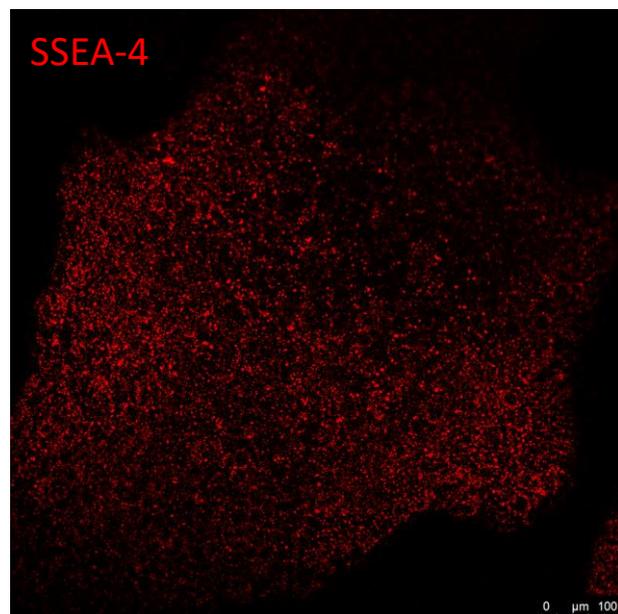
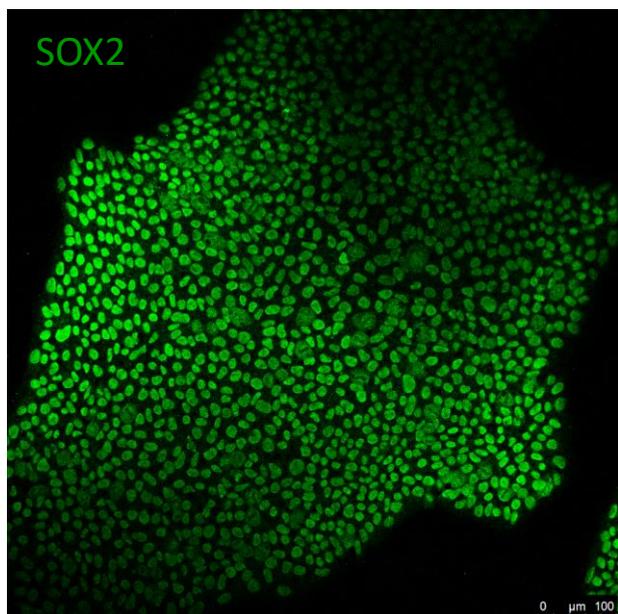
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



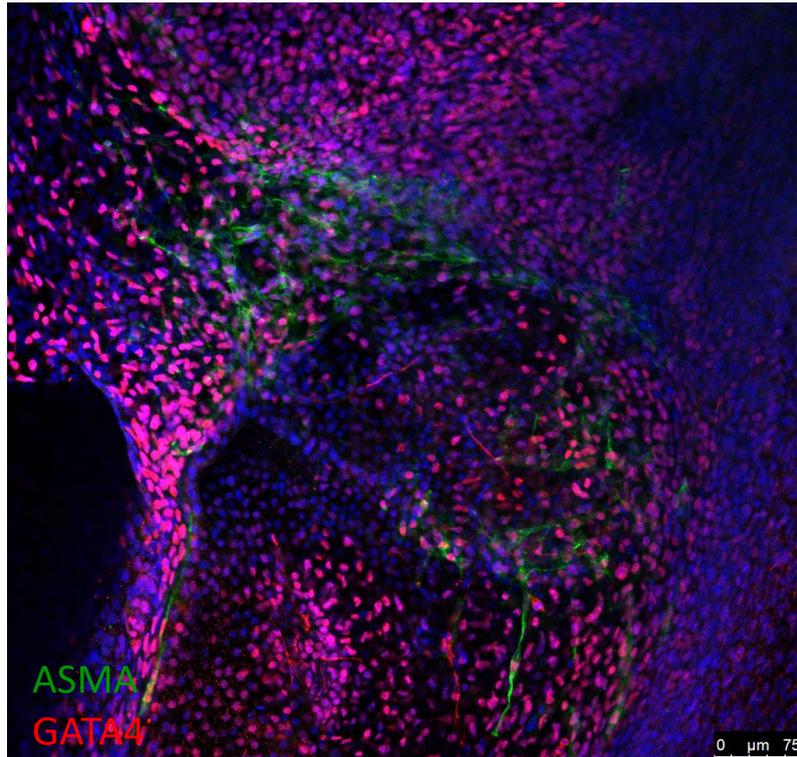
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

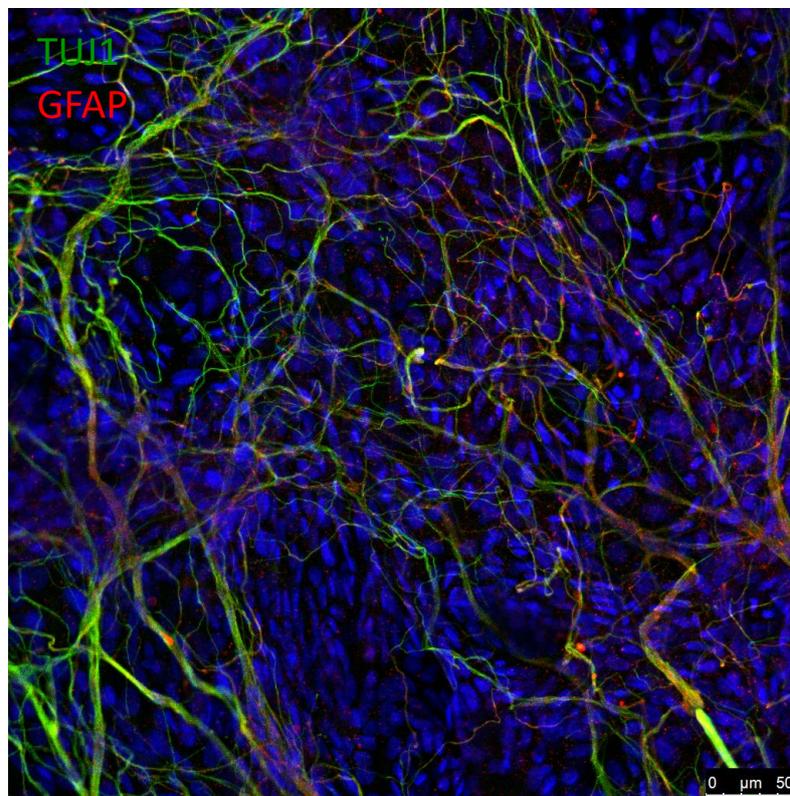


Anexo 2

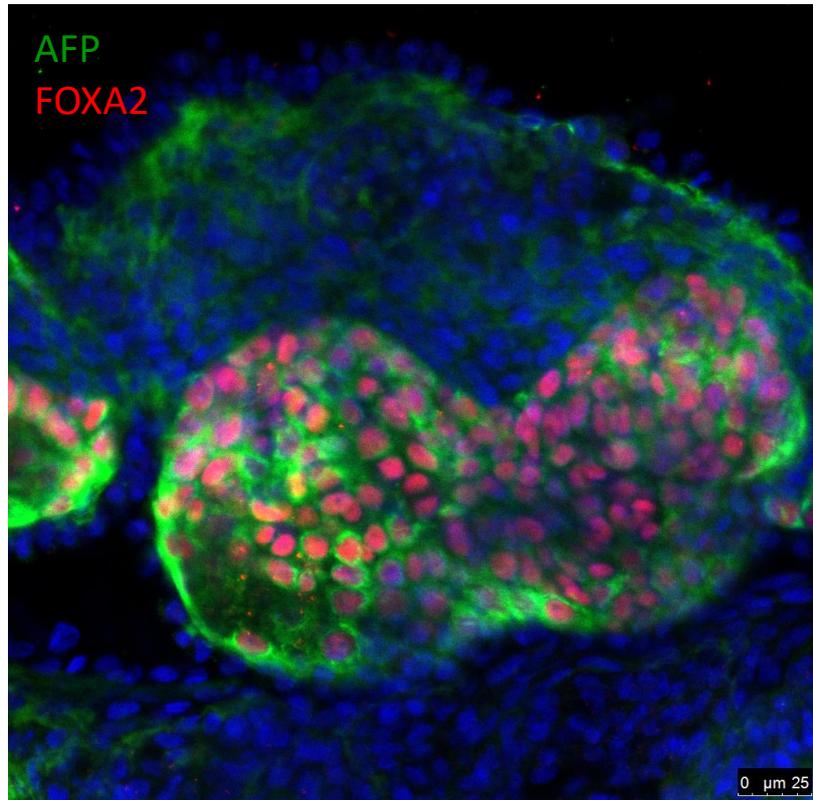
Diferenciación *in vitro*



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: 13270859

Department: Idibell

NHC: CT0326

Sample: CM

Name: Hz 33-14-1 CBiPS6-Sv4F-H6 p15

Date: 12/7/2021



Case: 13270859 Slide: 2 Cell: 2

Result: 46,XX



Anexo 4

Resultado microsatélites

P-CMR[C]

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
Hz 33-14-1 CBiPS6-Sv4F H6 p15	6; 8	32.2; 33.2	11; 12	11; 12	8; 12	12	10; 11	X	18	8; 10

Barcelona, a 15 de diciembre de 2021

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

P-CMR[C]

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
CD34 33-14-1, H, 19.04.21	6; 8	32.2; 33.2	11; 12	11; 12	8; 12	12	10; 11	X	18	8; 10

Barcelona, a 14 de julio de 2021

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en las células de las que procede.



Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.1

1. Control + SENDAI 2.1
2. Hz-33-14-1 CBiPS6 Sv4F-H3, P8
3. Hz-33-14-1 CBiPS6 Sv4F-H6, P9
4. Hz-33-14-1 CBiPS6 Sv4F-H7, P8
5. Hz-33-14-1 CBiPS6 Sv4F-H10, P10
6. Sample NO RT
7. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE)
8. H2O

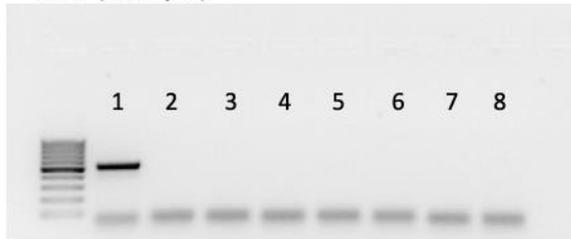
Sev (181 pb)



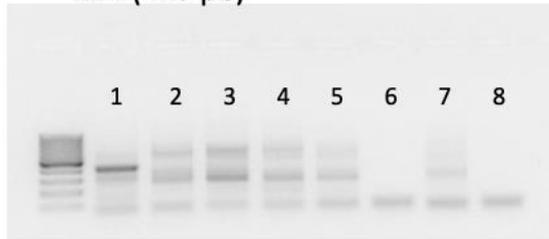
L- Myc (237 pb)



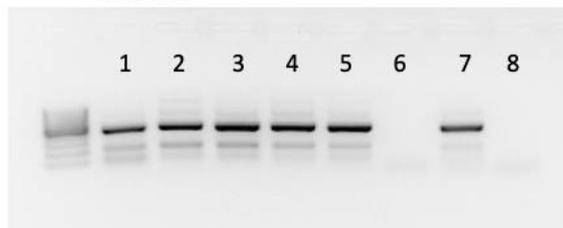
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



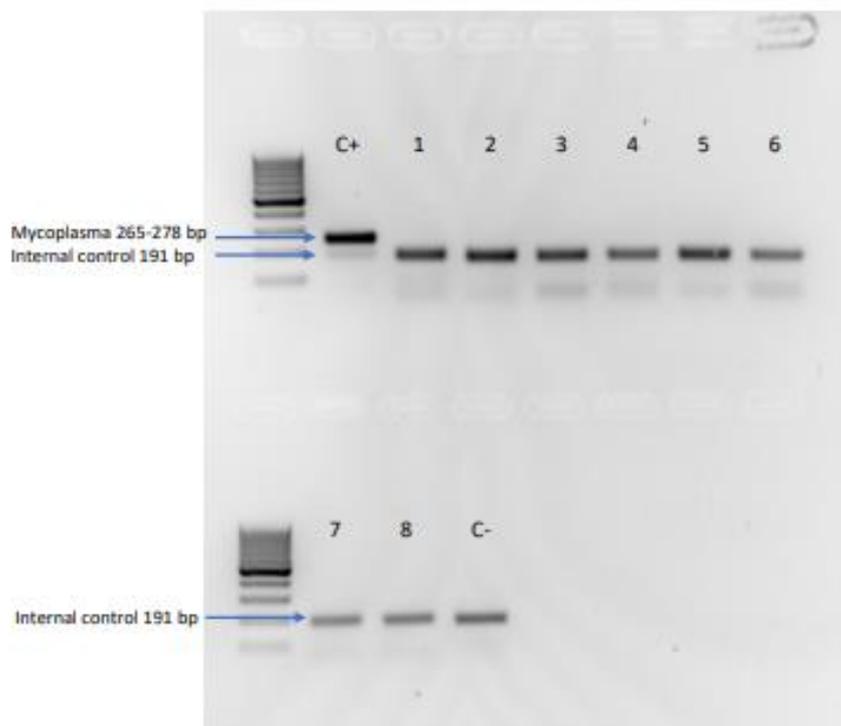
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 19/11/2021



3. Hz 33-14-1 CBiPS6-Sv4F H6 p13
4. Hz 24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I12 p10
5. Hz 1-8-3 CBiPS4-Sv4F-F6 p13