



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **ALD FiPS3-Ep6F-4** 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

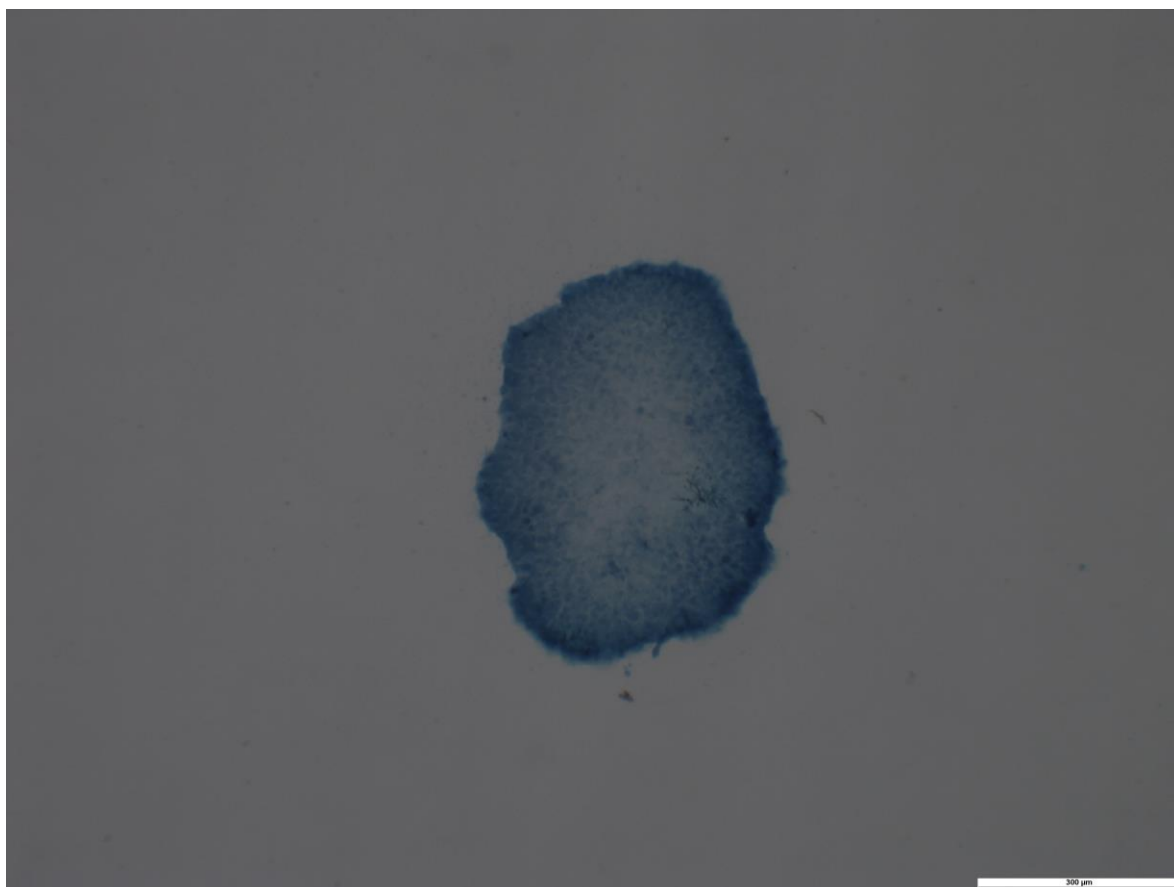
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

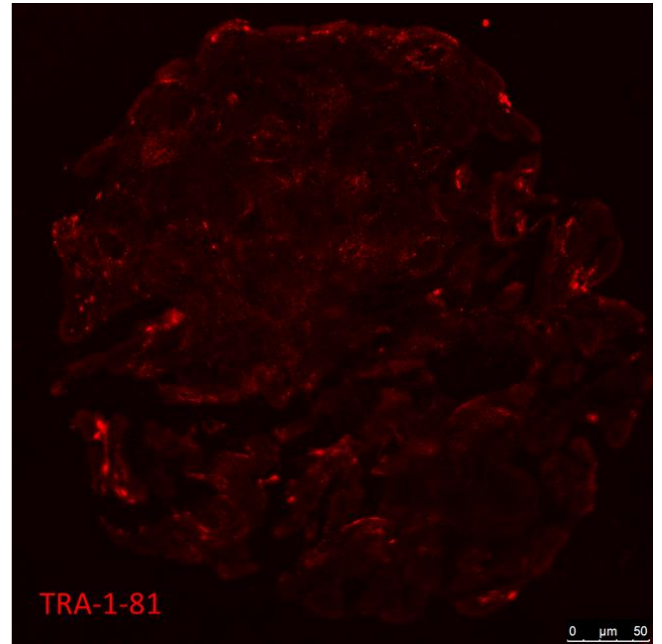
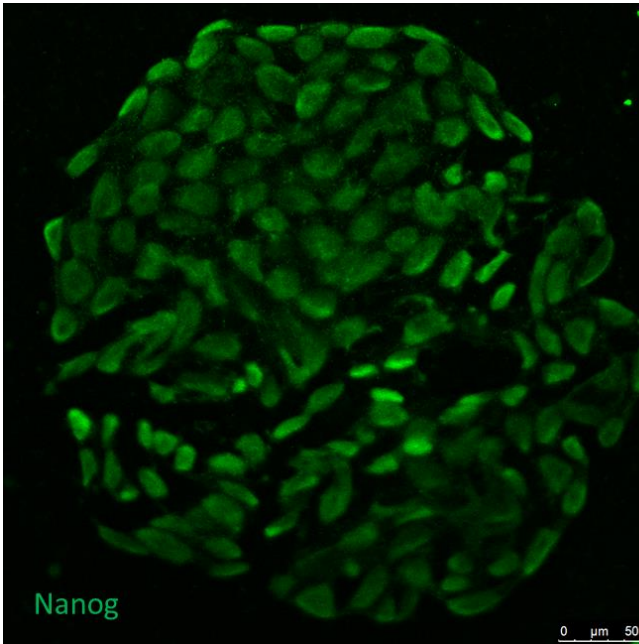


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

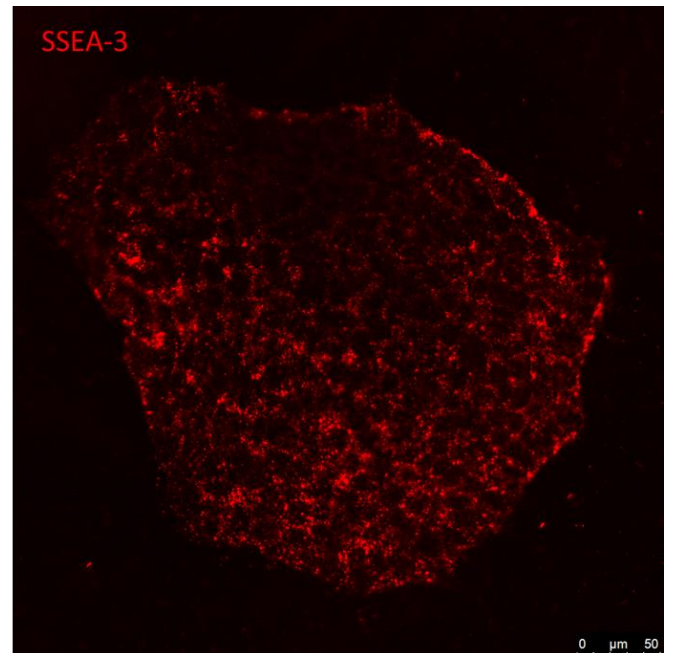
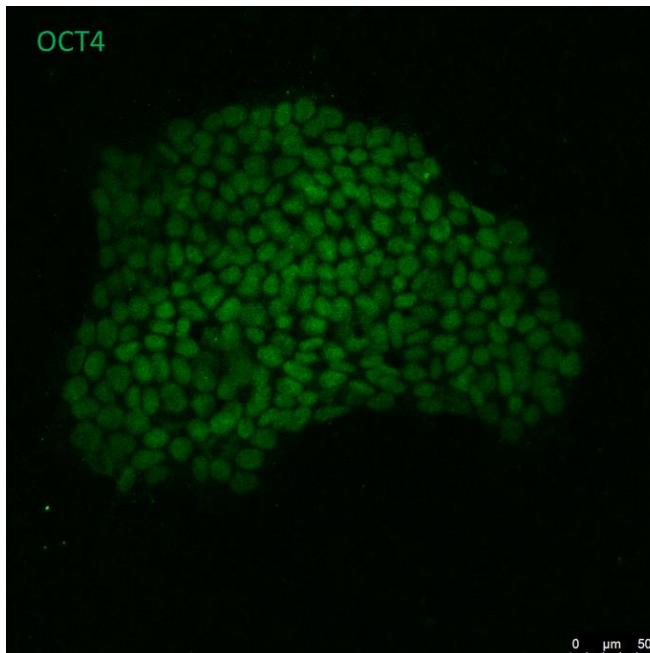


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



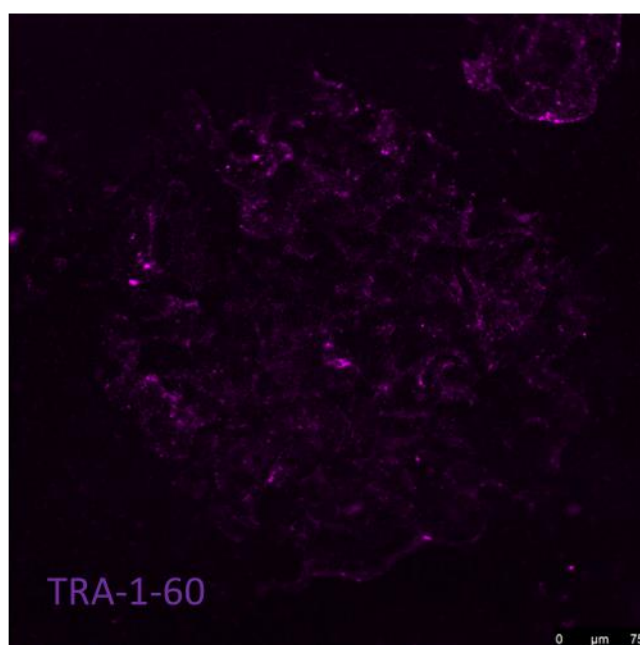
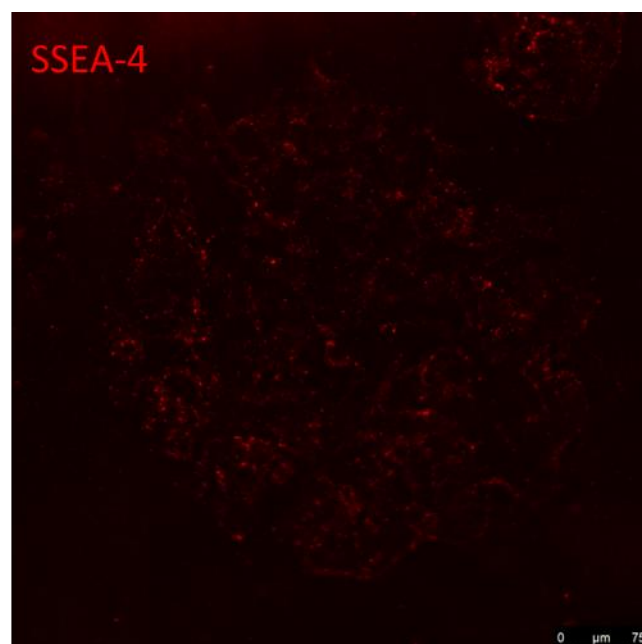
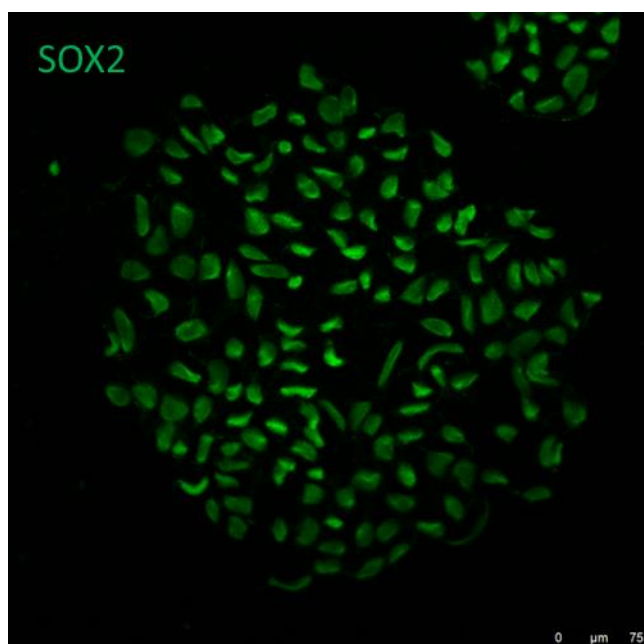
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



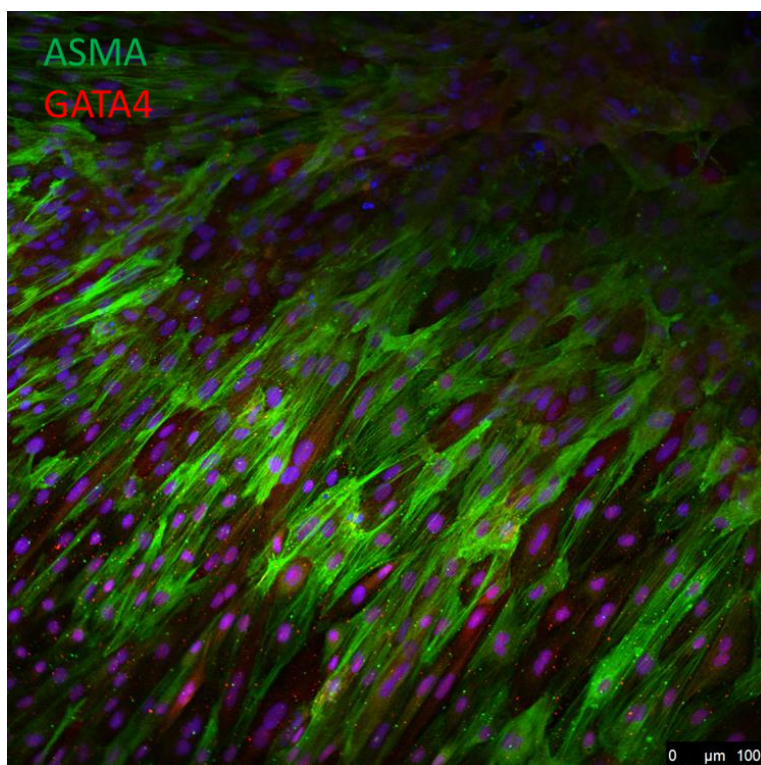
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

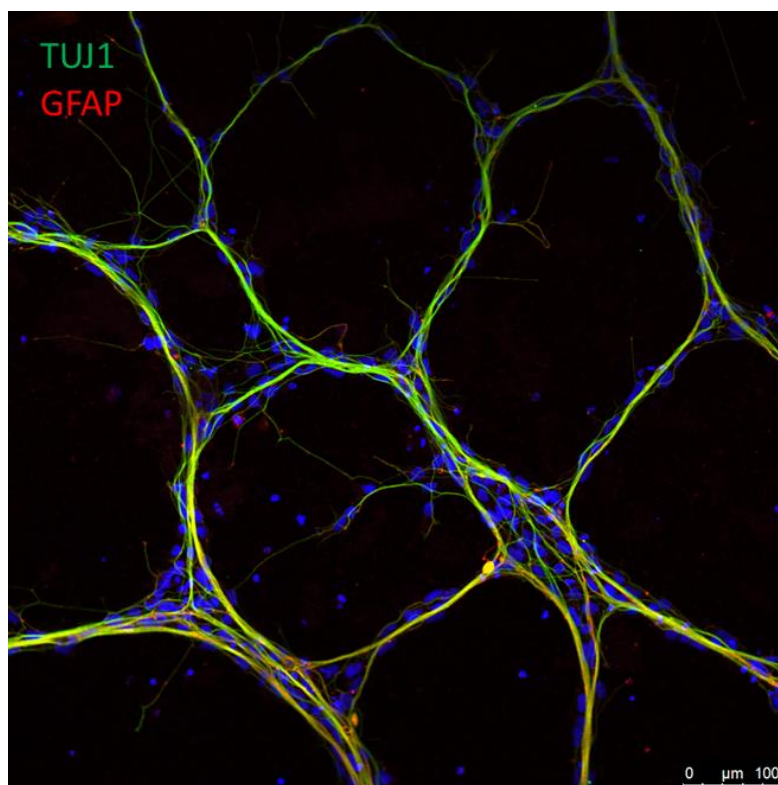


Anexo 2

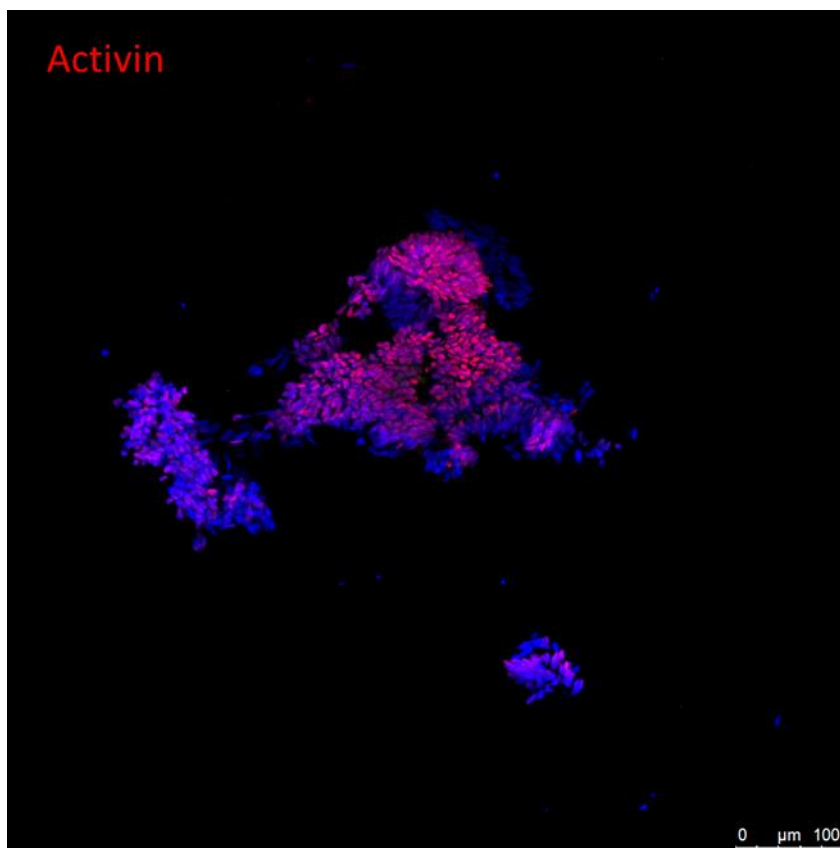
Diferenciación *in vitro*



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 **Activin**



Anexo 3

Cariotipo

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 42360471

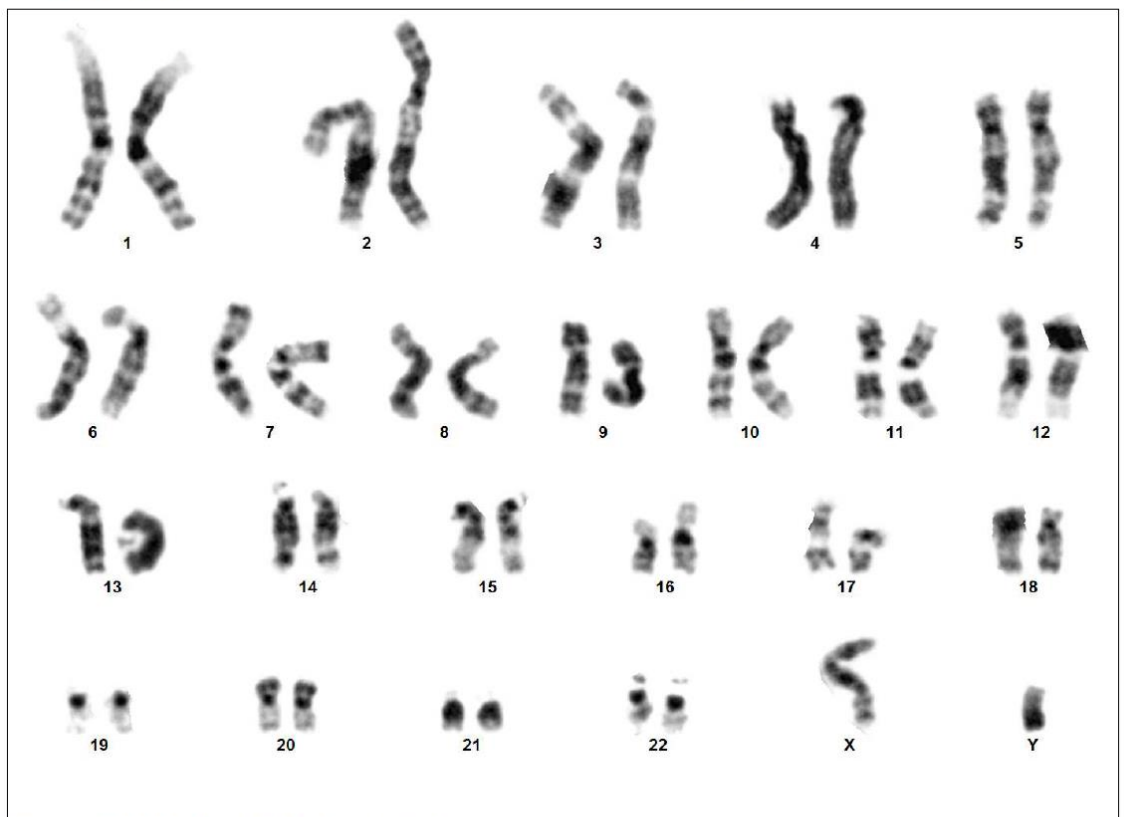
Name: ALD FiPS3-Ep6F-4 p15

NHC: CT0883

Department: IDIBELL

Date: 9/10/2024

Sample: CM



Case: 42360471 Slide: 2 Cell: 2

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsátélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
	ALD FiPS3-Ep6F-4 p13	1335132	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® Identifiler® 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 1335132	
D8S1179	8	13	14
D21S11	21q11.2-q21	29	30
D7S820	7q11.21-22	8	8
CSF1PO	5q33.3-34	11	13
D3S1358	3p	15	18
TH01	11p15.5	6	9,3
D13S317	13q22-31	11	14
D16S539	16q24-qter	10	11
D2S1338	2q35-37.1	18	22
D19S433	19q12-13.1	13	16
VWA	12p12-pter	17	18
TPOX	2p23-2per	8	9
D18S51	18q21.3	16	19
D5S818	5q21-31	12	12
FGA	4q28	20	23
AMELOGENINA*	X: p22.1-22.3- Y: p11.2	X	Y

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

L'Hospitalet del Llobregat, 12/09/2024



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
	FB JREV, P5, 0,15M CELLS 11.01.2023	1221810	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 1221810	
D8S1179	8	13	14
D21S11	21q11.2-q21	29	30
D7S820	7q11.21-22	8	8
CSF1PO	5q33.3-34	11	13
D3S1358	3p	15	18
TH01	11p15.5	6	9.3
D13S317	13q22-31	11	14
D16S539	16q24-qter	10	11
D2S1338	2q35-37.1	18	22
D19S433	19q12-13.1	13	16
VWA	12p12-pter	17	18
TPOX	2p23-2per	8	9
D18S51	18q21.3	16	19
D5S818	5q21-31	12	12
FGA	4q28	20	23
AMELOGENINA*	X: p22.1-22.3- Y: p11.2	X	Y

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

L'Hospitalet del Llobregat, 06/02/2024



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

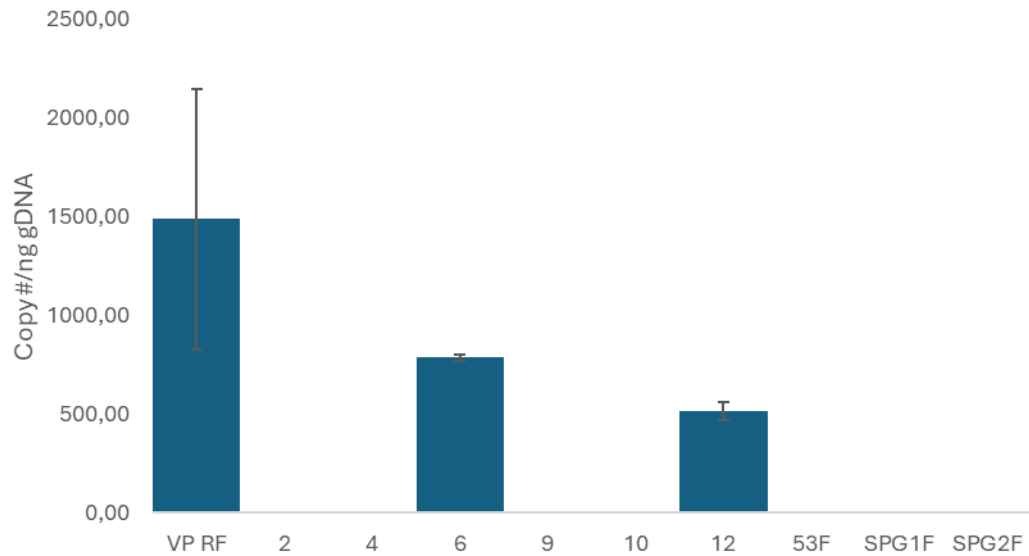
Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.



Anexo 5

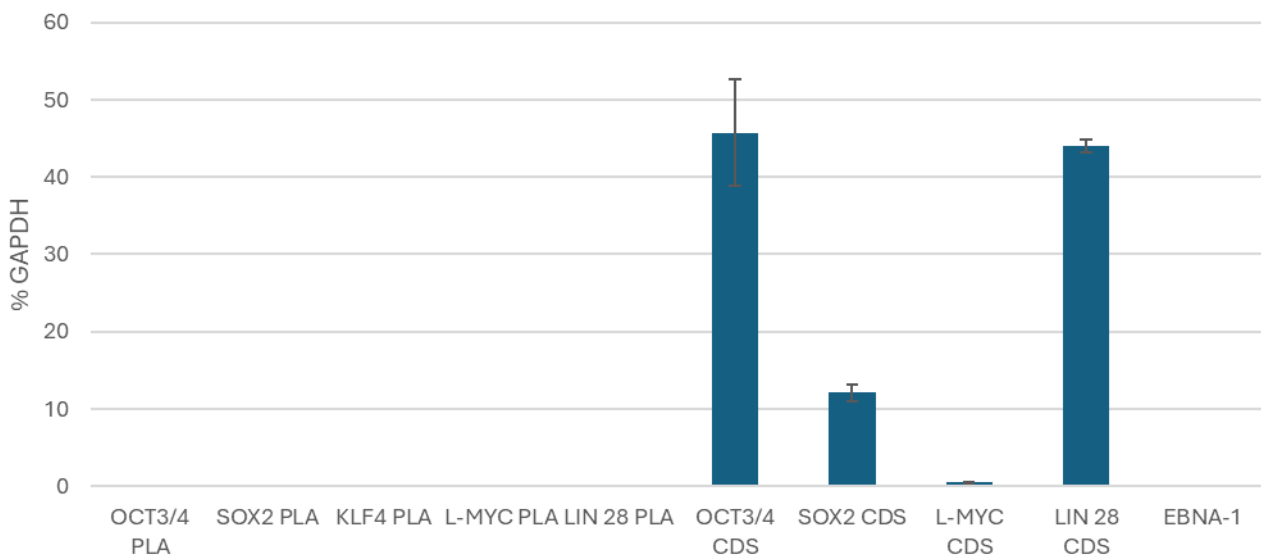
Ausencia de los transgenes de reprogramación

Copy number episomal ALD3



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en diversos clones de la línea de iPSC **ALD FiPS3-Ep6F-**, en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG1F y SPG2F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección (**VP-RF**)

ALD FiPS3-Ep6F-4 p9



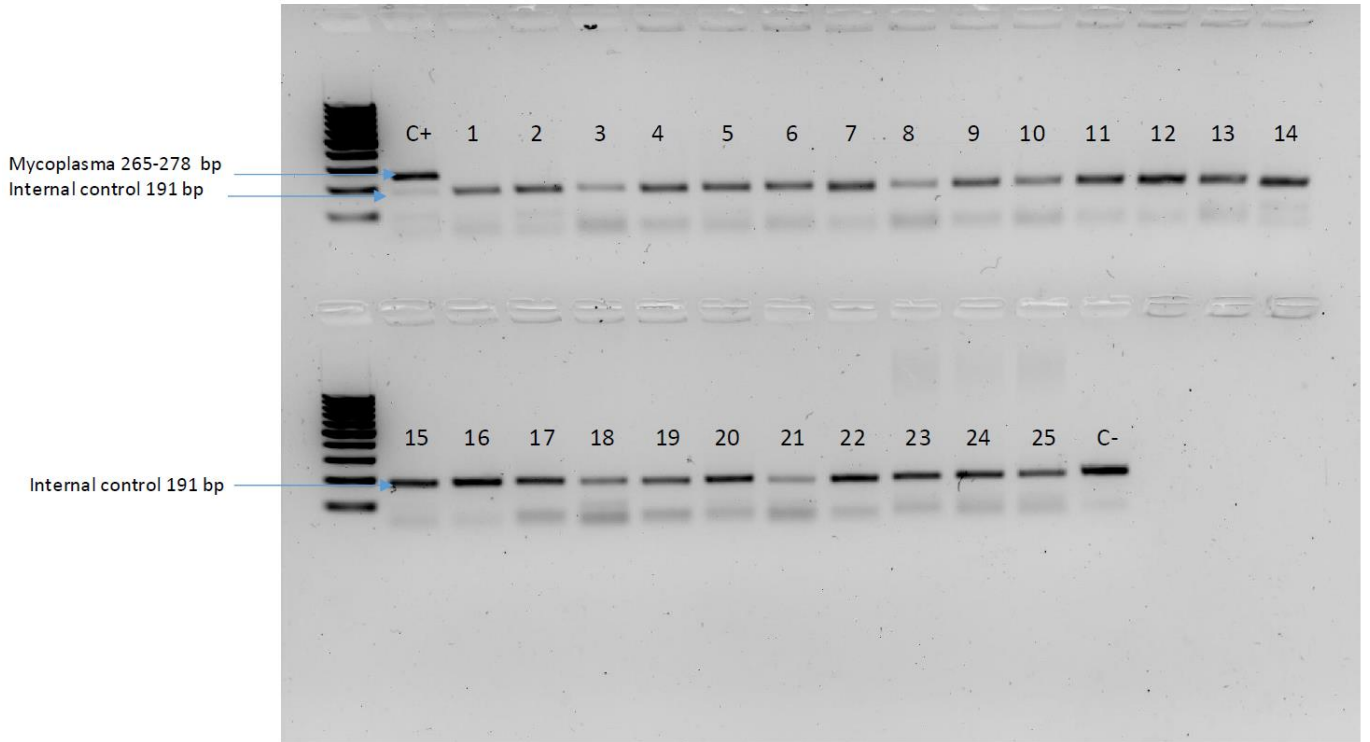
Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **ALD FiPS3-Ep6F-4**



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 07/08/2024



2. ALD FiPS3 Ep6F-4, P12,