

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO  
DE LA LÍNEA CELULAR **[STGD4]-FiPSC1-**  
**Ep5F-8** EN EL BANCO NACIONAL DE  
LÍNEAS CELULARES

## Anexos:

- Anexo 1: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen y su correspondiente línea iPSC
- Anexo 2: Test de fosfatasa alcalina y marcadores de Pluripotencia
- Anexo 3: Test de diferenciación *in vitro*
- Anexo 4: Cariotipo
- Anexo 5: Test de integración y silenciamiento
- Anexo 6: Secuenciación Sanger de la mutación
- Anexo 7: Test de *Mycoplasma*

## Anexo 1:

La línea original de fibroblastos FbSTGDIV coincide en los microsatélites analizados (CSF1PO, D13S317, D16S539, D21S11, D5S818, D7S820, TH01, TPOX y vWA, y Amelogenin) con la línea iPSC a depositar

### Análisis de microsatélites de la línea de fibroblastos FbSTGDIV:

## 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	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
FbSTGDIV	7; 9	28; 31.2	9; 12	11; 13	11; 13	13; 14	11; 13	X; Y	15; 17	8; 11

Barcelona, a 23 de mayo de 2023

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

Análisis de microsatélites de la línea iPSC a depositar:

## 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	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
STGDIV]-FiPSC1-Ep5F-8 p7	7; 9	28; 31.2	9; 12	11; 13	11; 13	13; 14	11; 13	X; Y	15; 17	8; 11

Barcelona, a 23 de mayo de 2023

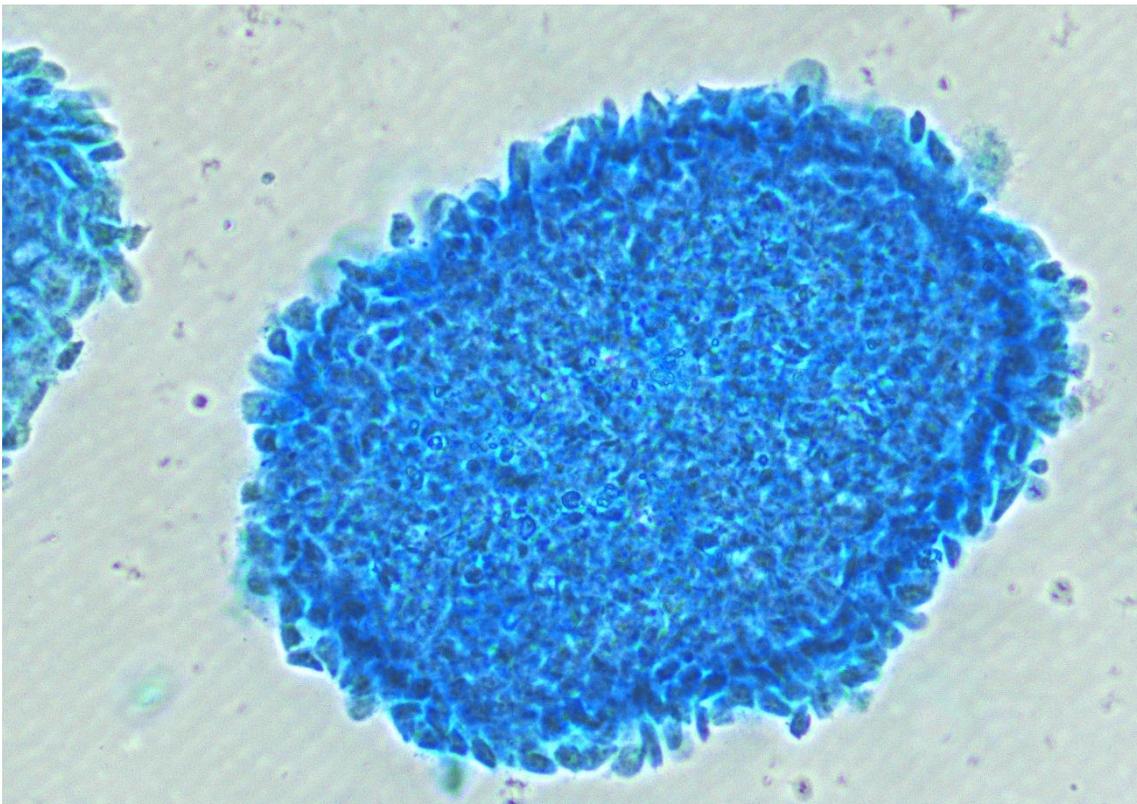
Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

## Anexo 2:

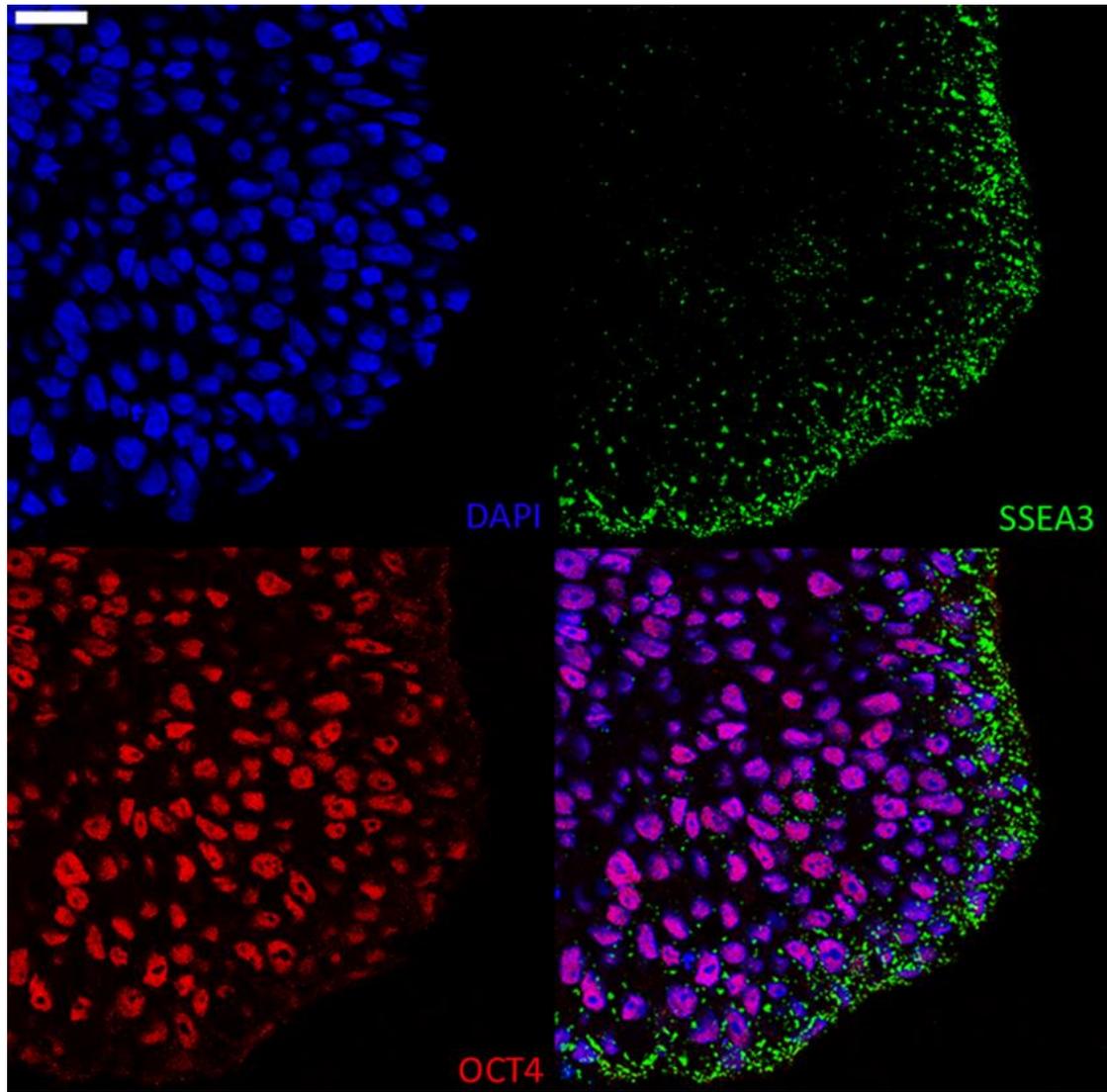
### Test de Fosfatasa alcalina

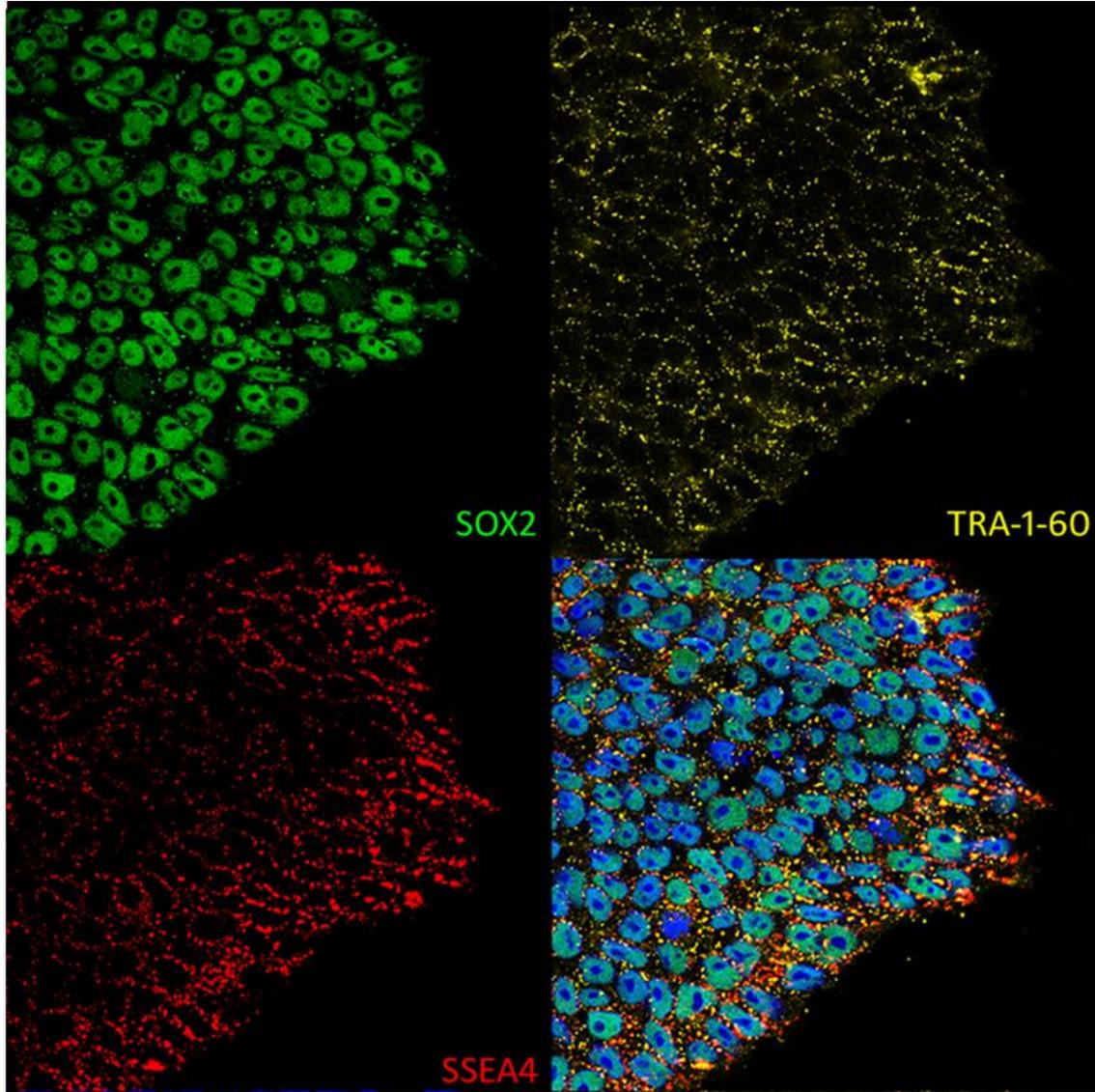
Test de fosfatasa alcalina positivo demostrando alta actividad de fosfatasa alcalina, característico de las células iPSC.

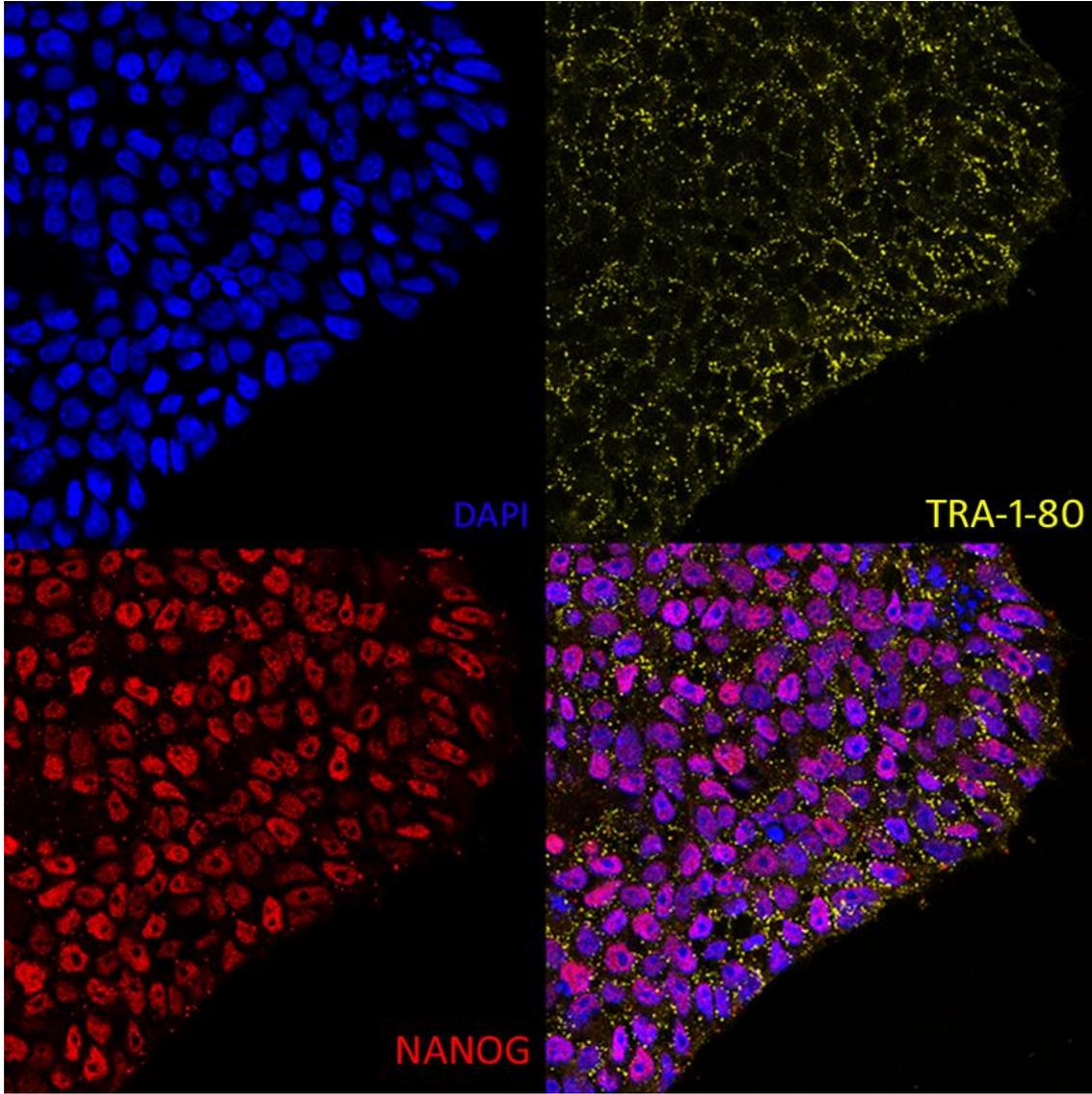


Marcadores de pluripotencia:

Inmunoreactividad positiva a los marcadores de pluripotencia OCT4, SSEA3, SOX2, SSEA4, TRA1-60, NANOG, y TRA-1-81. Escala de 25  $\mu$ m.



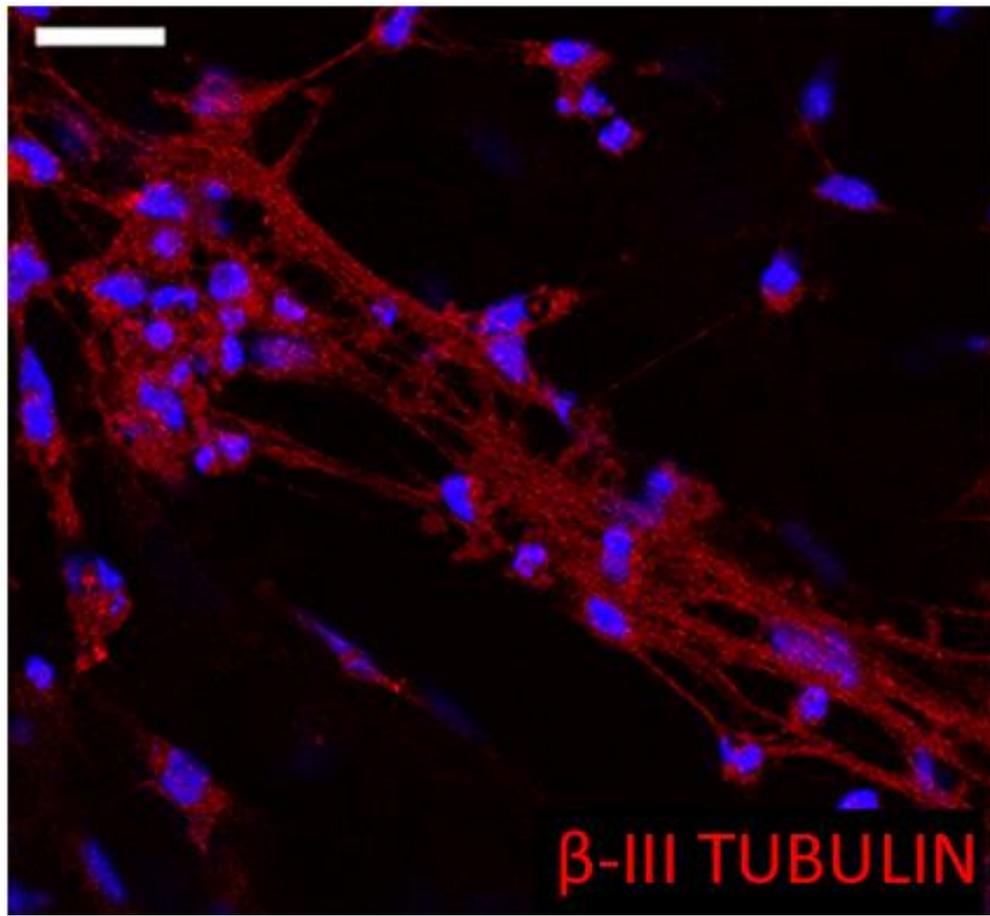




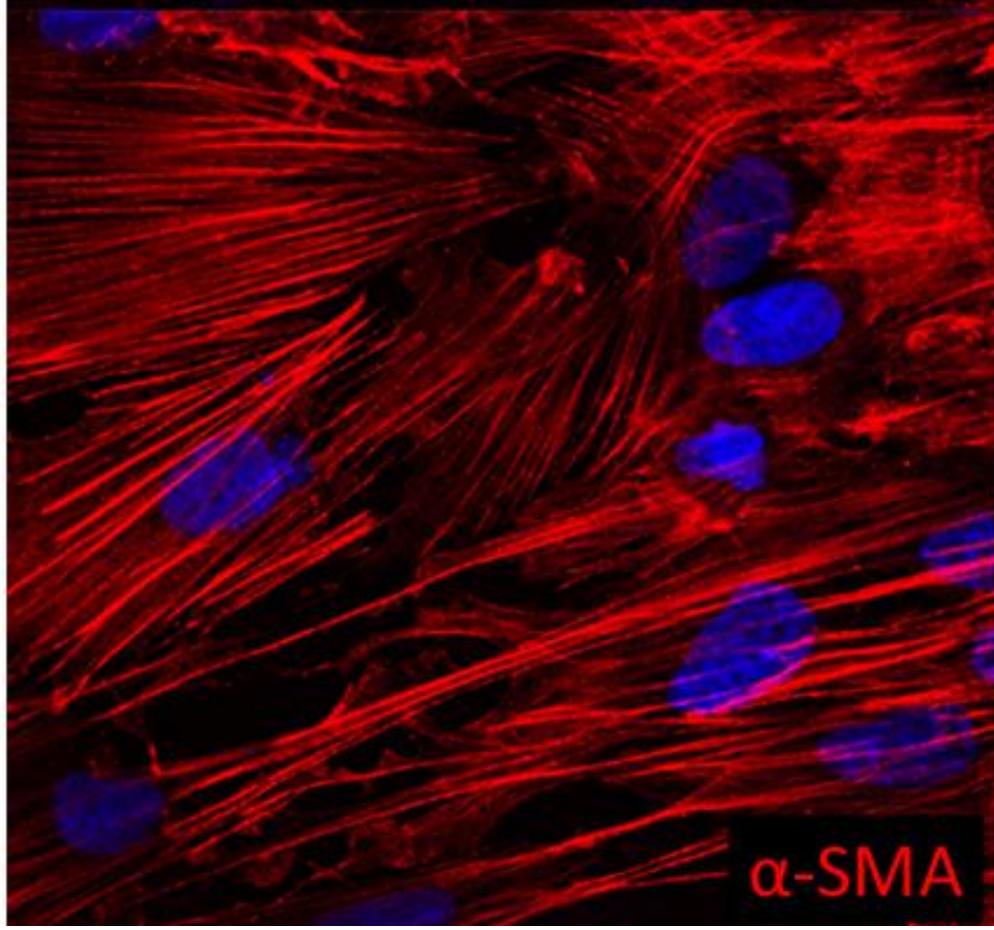
### Anexo 3:

Inmunoreactividad positiva a marcadores de las tres capas germinales: ectodermo ( $\beta$ -III Tubulin), mesodermo ( $\alpha$ -SMA) y endodermo ( $\alpha$ -1 Fetoprotein). Escala 25  $\mu$ m

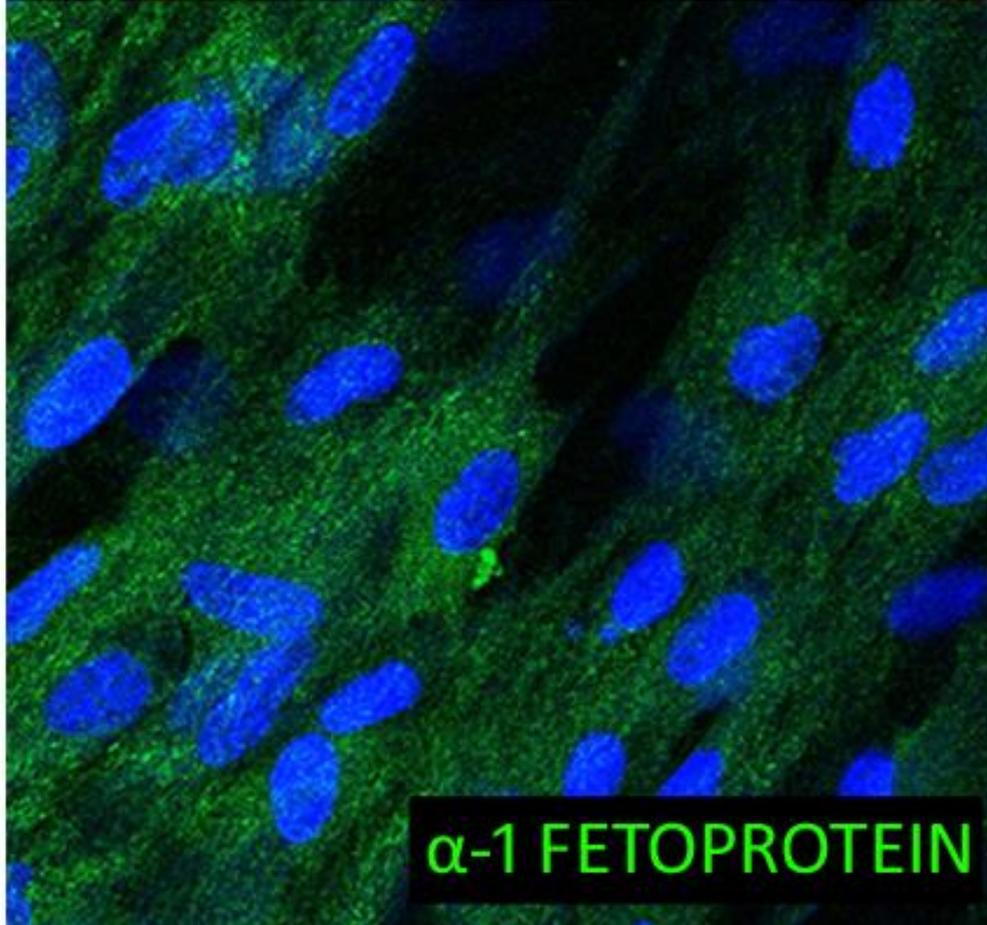
#### Diferenciación a células de ectodermo



## Diferenciación a células de mesodermo



Diferenciación a células de endodermo



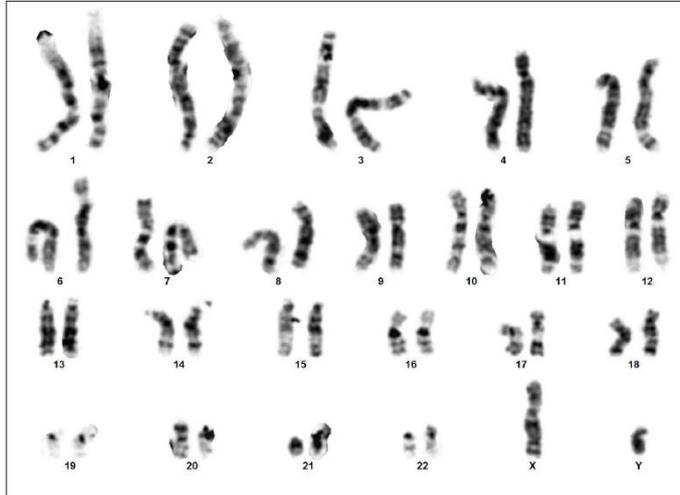
**Anexo 4:**

**Análisis citogenético sin alteraciones**



**CYTOGENETICS STUDY**

Case name: 31380562 Department: IDIBELL  
 Name: STGDIV FIPSC1 Ep5F-8 p7 Date: 6/12/2023  
 NHC: CT0605 Sample: CM



Case: 31380562 Slide: 2 Cell: 5F

Result: 46,XY



**Àrea de laboratori**  
 Sant Joan de Déu Barcelona

Laboratori Central Tel. (+34) 93.253.21.10  
 Hosp. Univ. Materno-infantil Sant Joan de Déu e-mail: laboratori@sjdhospitalbarcelona.org  
 Pg Sant Joan de Déu, 2  
 08950 Esplugues de Llobregat  
 Laboratori certificada segons la norma UNE-EN ISO 9001:2015 (ER-1333/2002)

Servei peticionari	IDIBELL
Núm. H. Clínica	CT0605
Data naixement	Sexe ?
Data recepció mostra	18/05/2023 10:05
Clau laboratori	001/3.138.0562
Referència externa	

**STGDIV FIPSC1 Ep5F-8 p7.**

**COMPLET**

DATA EMISSIÓ: 15/06/2023  
 HOSPITAL SANT JOAN DE DÉU

ANÀLISI	RESULTAT	UNITATS	REF.	P	1 / 1
---------	----------	---------	------	---	-------

**GENÈTICA**

**ESTUDI CITOGENÈTIC**

✓ Cariotip cèl·lules mare

Tècnica: Cultiu convencional per a aquest tipus de tinció de bandes G. Nivell de resolució entre 300 i per joc haploide.

Metafases estudiades: 20

Fòrmula cromosòmica : 46,XY

**Interpretació:**

No s'han detectat anomalies cromosòmiques estructurals entre les metafases analitzades.

**Observacions:**

Aquest resultat pot veure's afectat per les de la tècnica, com ara la presència d'un mosaic de freqüència o la detecció d'alteracions estructurals criptiques. No s'informa dels s'interpreten com a heteromorfismes. Aquest segueix les recomanacions de la European Guidelines for Constitutional Cytogenetics Analysis 2018 i

<http://corlabs/Storage/p690v6sxxc57szssjlmhn03bnquiqoag.pdf####31380562.pdf>

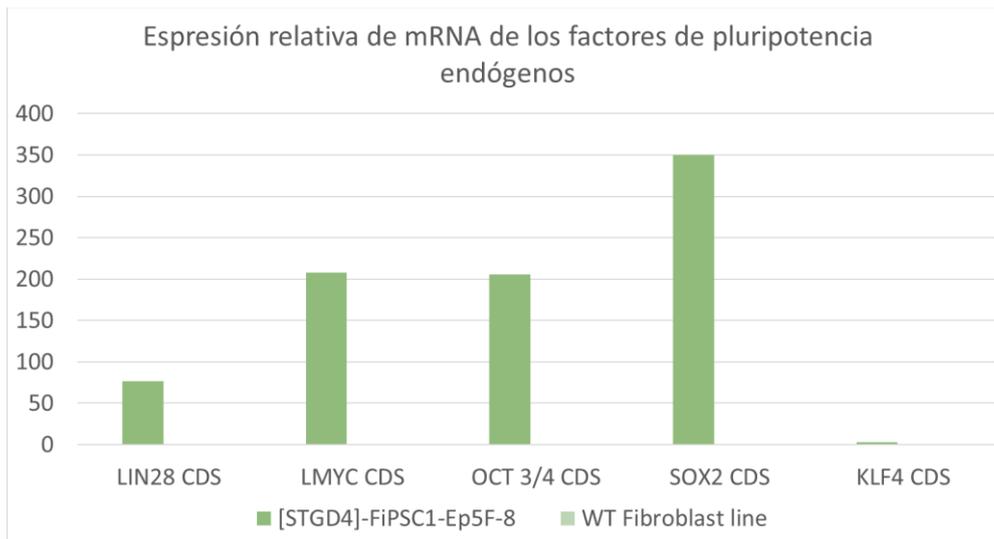
Validat per : Dra. Andreu Cortés Sandra

## Anexo 5:

### Test de integración

Técnica: qRT-PCR

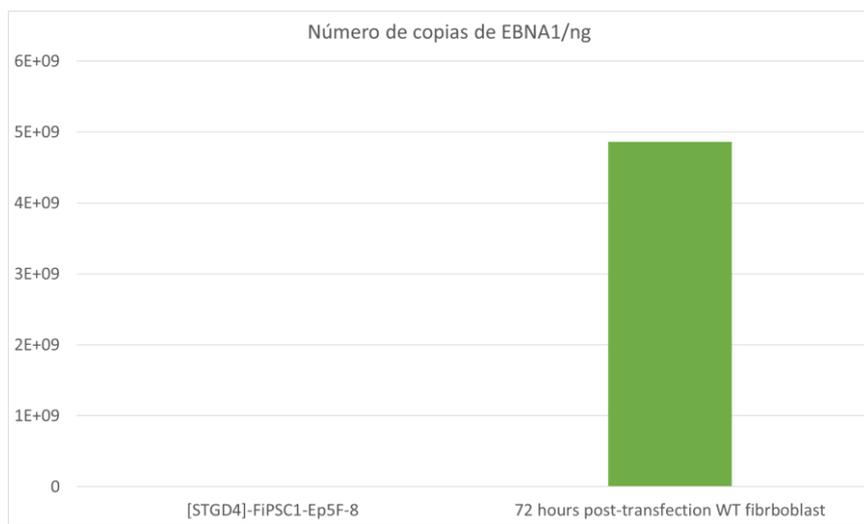
Expresión relativa del mRNA de los factores de pluripotencia endógenos (Lin28, LMYC OCT3/4, SOX2 y KLF4) significativamente mayor que en una línea de fibroblastos WT.



### Test de silenciamiento:

Técnica: quantitative copy number PCR

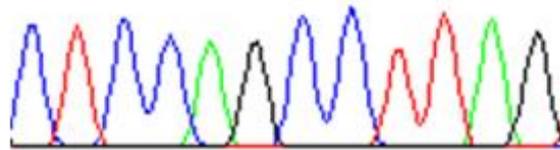
Ausencia de copias de secuencias EBNA1 presente en todos los vectores de reprogramación utilizados. Control una línea de fibroblastos WT 72 horas post transfección.



## Anexo 6:

Confirmación de la presencia de la mutación c.1354dupT en el exón 13 del gen PROM1.

La secuenciación Sanger muestra 7 timinas, cuando en un genotipo WT se aprecian solo 6.



260

GATTTTTTACT

[STGD4]-FiPSC1-Ep5F-8

**Anexo 7:**

Resultado negativo del test de *Mycoplasma* utilizando el kit MycoStrip™  
(Invivogen, Toulouse, France) basado en PCR isotérmica.

