

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE
LA LÍNEA CELULAR **N1-FiPS4F#7** EN EL
BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

*ANNEXES TO THE APPLICATION FORM FOR
DEPOSITING **N1-FiPS4F#7** CELL LINE INTO
THE NATIONAL BANK OF STEM CELL LINES*

ANEXOS/ANNEXES

Anexo 1: Test de pluripotencia de la línea [N1-FiPS4F#7](#)

Annex 1: Pluripotency Test

Anexo 2: Test de diferenciación *in vitro* de la línea [N1-FiPS4F#7](#)

Annex 2: In vitro differentiation Test

Anexo 3: Cariotipo de la línea [N1-FiPS4F#7](#)

Annex 3: Karyotype

Anexo 4: Huella genética de la línea [N1-FiPS4F#7](#)

Annex 4: Genetic fingerprinting

Anexo 5: Test de silenciamiento de la línea [N1-FiPS4F#7](#)

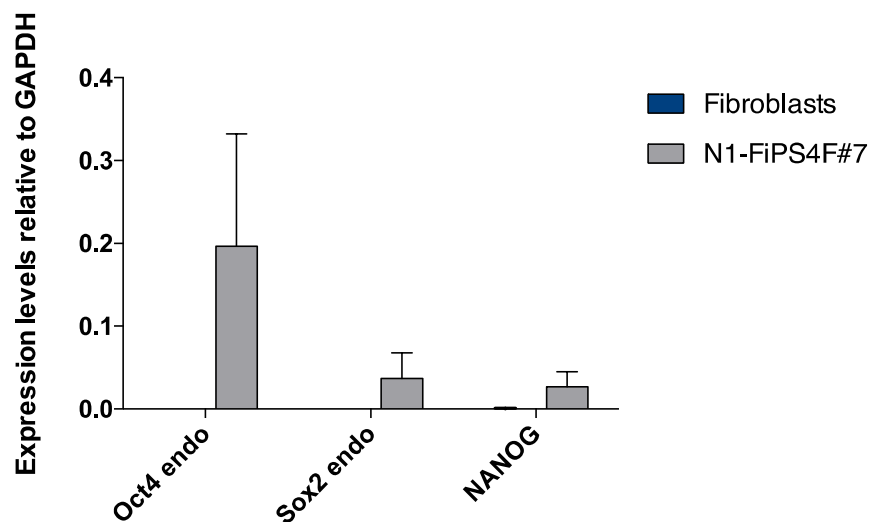
Annex 5: Silencing Test

Anexo 6: Test de micoplasma de la línea [N1-FiPS4F#7](#).

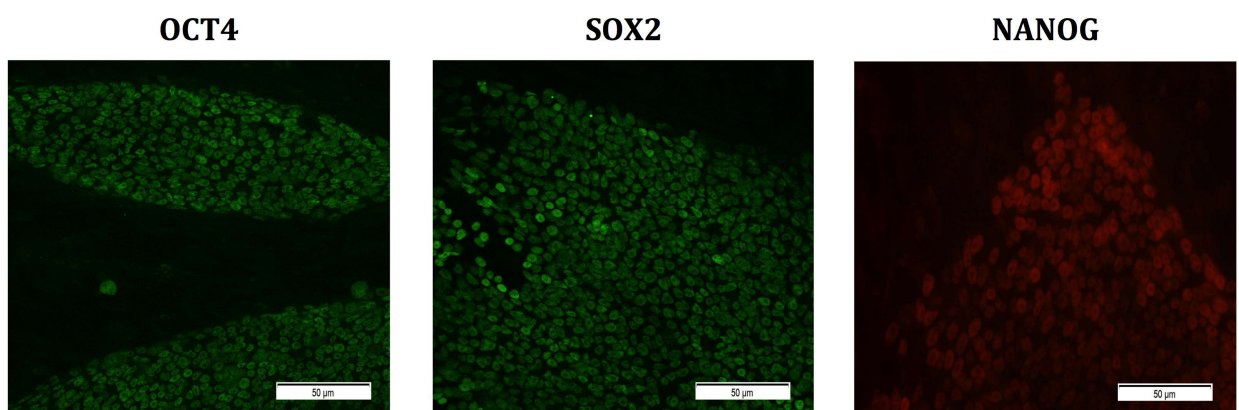
Annex 6: Mycoplasma Test

Anexo 1: Test de pluripotencia de la línea N1-FiPS4F#7

Annex 1: Pluripotency Test

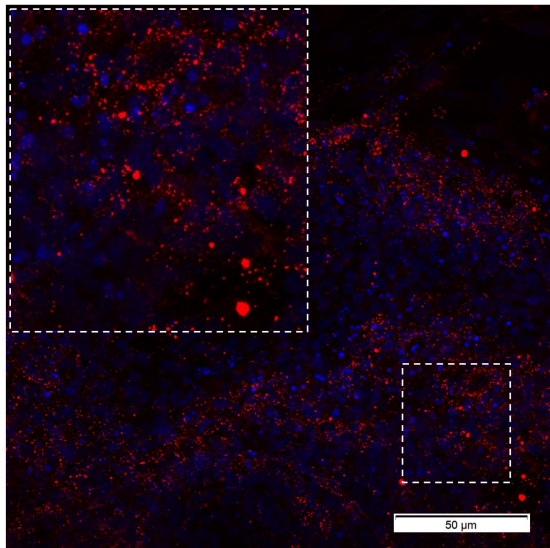


Niveles de expresión endógenos de OCT4, SOX2 y NANOG de la línea N1-FiPS4F#7.
Endogenous expression levels of OCT4, SOX2 and NANOG.

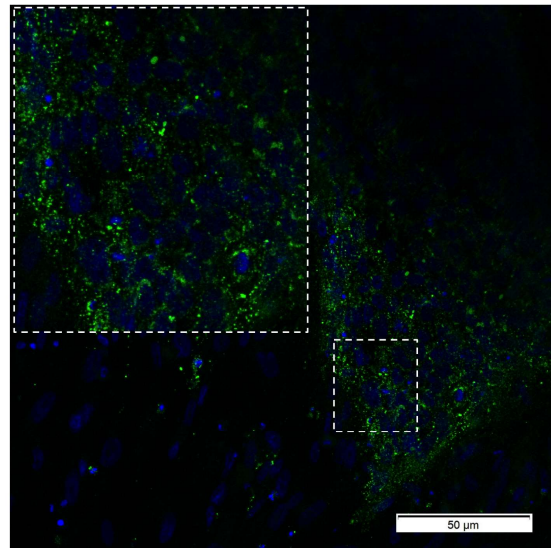


Detección por inmunofluorescencia de la expresión de Oct4, Sox2 y NANOG en la línea N1-FiPS4F#7. Escala 50 µm.
Immunofluorescence detection of OCT4, SOX2 and NANOG expression. Scale 50 µm.

SSEA-3



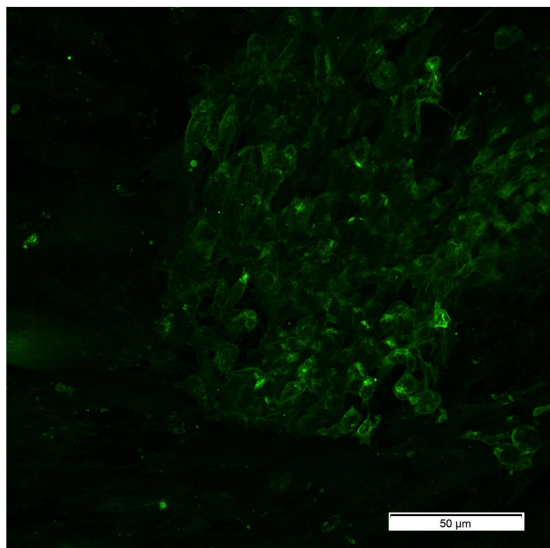
SSEA-4



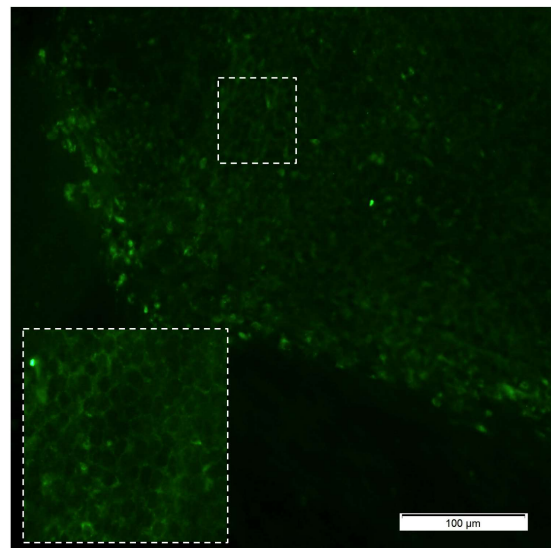
Detección por inmunofluorescencia de la expresión de SSEA-3 Y SSEA-4 en la línea **N1-FiPS4F#7**. Escala 50 μm.

Immunofluorescence detection of SSEA-3 AND SSEA-4 expression. Scale 50 μm.

TRA1-60

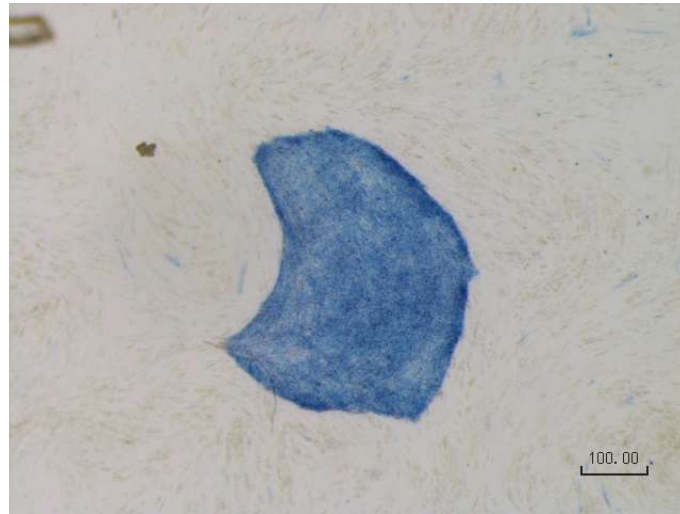


TRA1-81



Detección por inmunofluorescencia de la expresión de TRA1-60 (escala 50 μm) y TRA1-81 (escala 100 μm) en la línea **N1-FiPS4F#7**.

Immunofluorescence detection of TRA1-60 (scale 50 μm) and TRA1-81(scale 100 μm) expression.

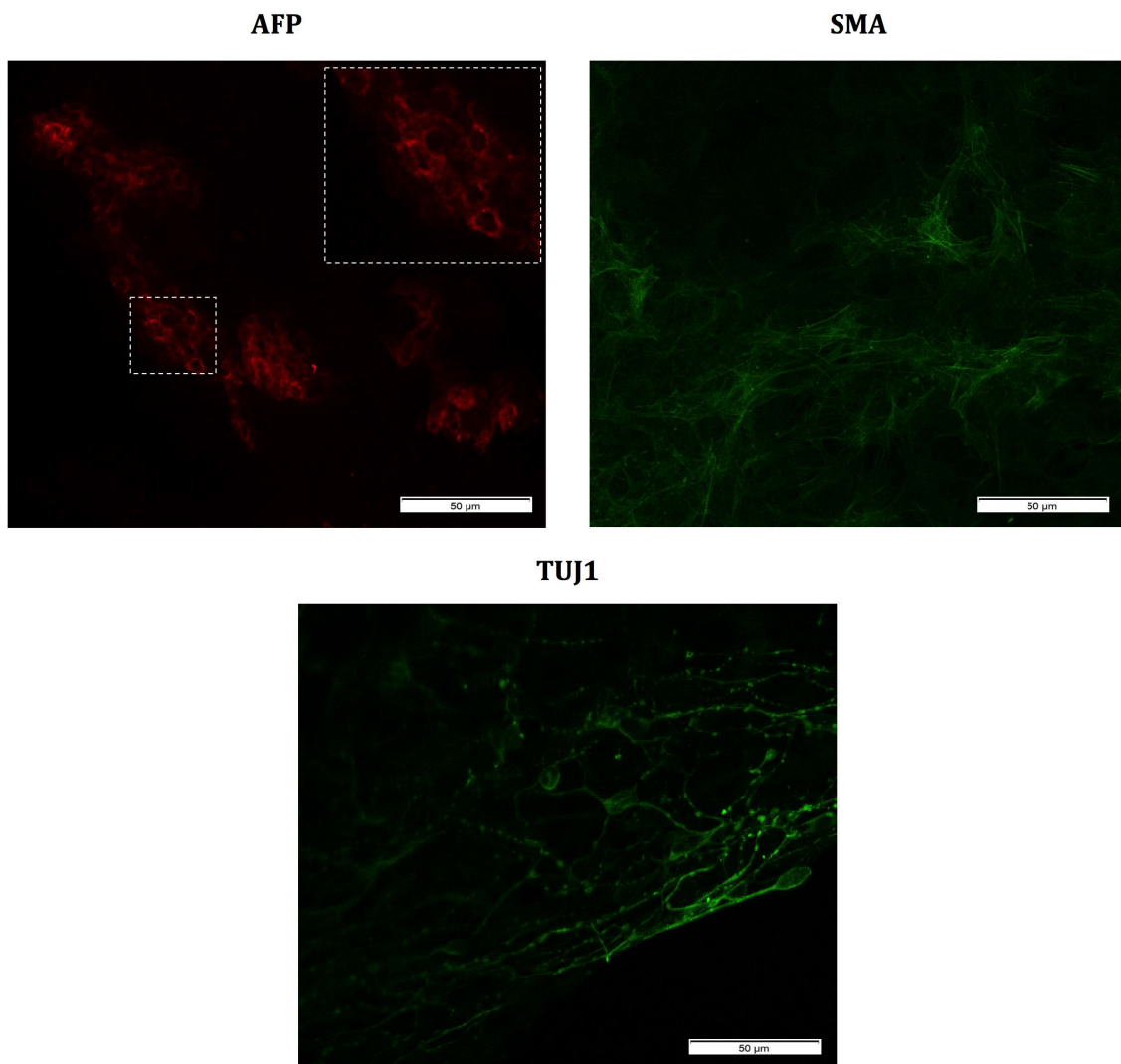


Detección de la actividad fosfatasa alcalina en la línea **N1-FiPS4F#7** mediante el kit *alkaline phosphatase blue membrane substrate solution kit* (AB0300; Sigma-Aldrich Química S.A).

Detection of alkaline phosphatase activity.

Anexo 2: Test de diferenciación *in vitro* de la línea N1-FiPS4F#7

Annex 2: In vitro differentiation Test



Diferenciación *in vitro* hacia endodermo (alfa-Fetoproteína, AFP), mesodermo (actina de músculo liso, SMA) y ectodermo (beta-Tubulina III, TUJ1) de la línea N1-FiPS4F#7. Células positivas para AFP, SMA y TUJ1.

In vitro differentiation towards endoderm (alpha, Fetoprotein, AFP), mesoderm (smooth muscle actin, SMA) and ectoderm (beta-Tubulin III, TUJ1). AFP, SMA and TUJ1 positive cells.

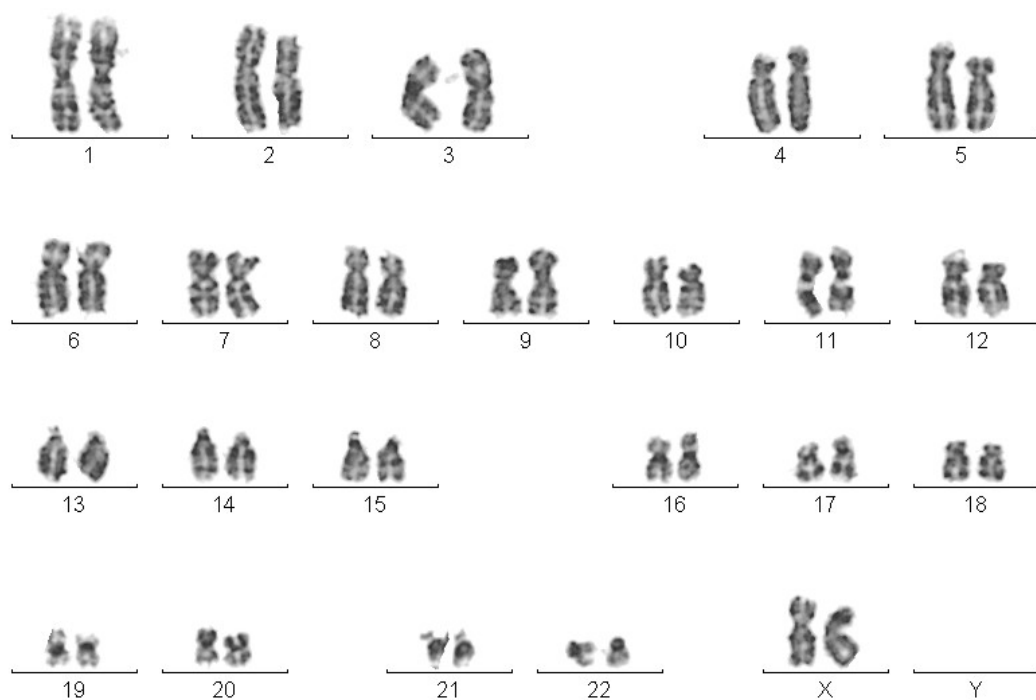
Anexo 3: Cariotipo de la línea N1-FiPS4F#7

Annex 3: Karyotype

El análisis de Cariotipo se realizó mediante bandeo G.

Karyotype analysis was performed using G banding.

1. El análisis reveló que la línea N1-FiPS4F#7 se originó de una mujer.
KaryoStat™ analysis revealed N1-FiPS4F#7 was originated from a female individual.
2. El cariotipo es normal.
Karyotype is normal.



Anexo 4: Huella genética de la línea N1-FiPS4F#7

Annex 4: Genetic fingerprinting

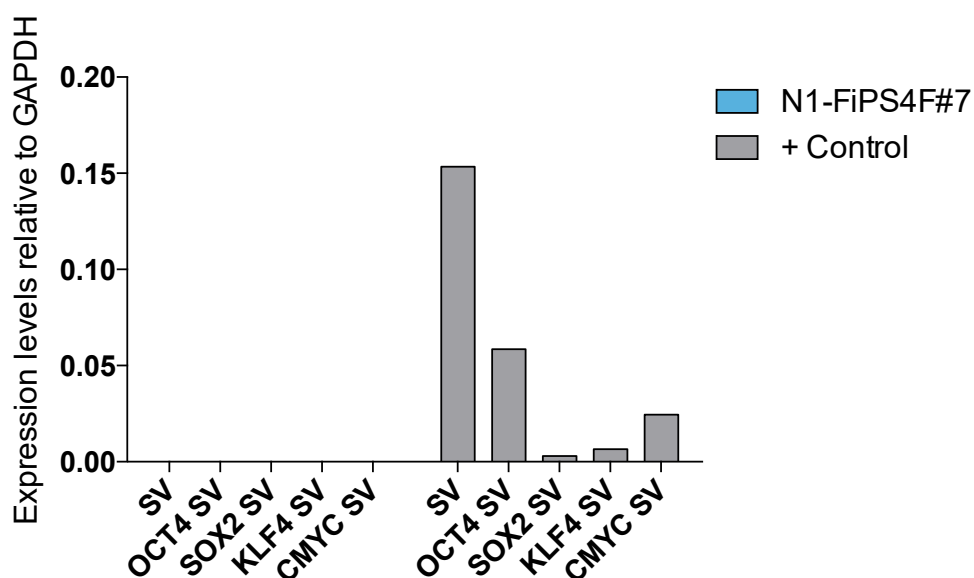
Informe independiente elaborado por la plataforma de genómica del Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Madrid.

Independent report elaborated by the genomic service at Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Madrid.

FOR-SQP-27: RESULTADOS AUTENTIFICACION LINEAS CELULARES HUMANAS. Rev 00. Fecha: 20.02.2013													
USUARIO													
NOMBRE	RUN	MICROS											COINCIDENCIA
MUESTRA		<i>M. musculus</i>	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	VWA	TH01	AMEL	TPOX	CSF	D21S11	C/NC
Fibroblastos		Negativo	11,13	10,13	9,11	11,12	18	7,9	X	8,12	11,12	29	
N1-FiPS4F#7	M188	*****	11,13	10,13	9,11	11,12	18	7,9	X	8,12	11,12	29	C
COINCIDENCIA	C												
NO COINCIDENCIA	NC												
MEZCLA DE LÍNEAS	MEZCLA												
CONTAMIN RATON	RATON												

Anexo 5: Test de silenciamiento de la línea N1-FiPS4F#7

Annex 5: Silencing Test

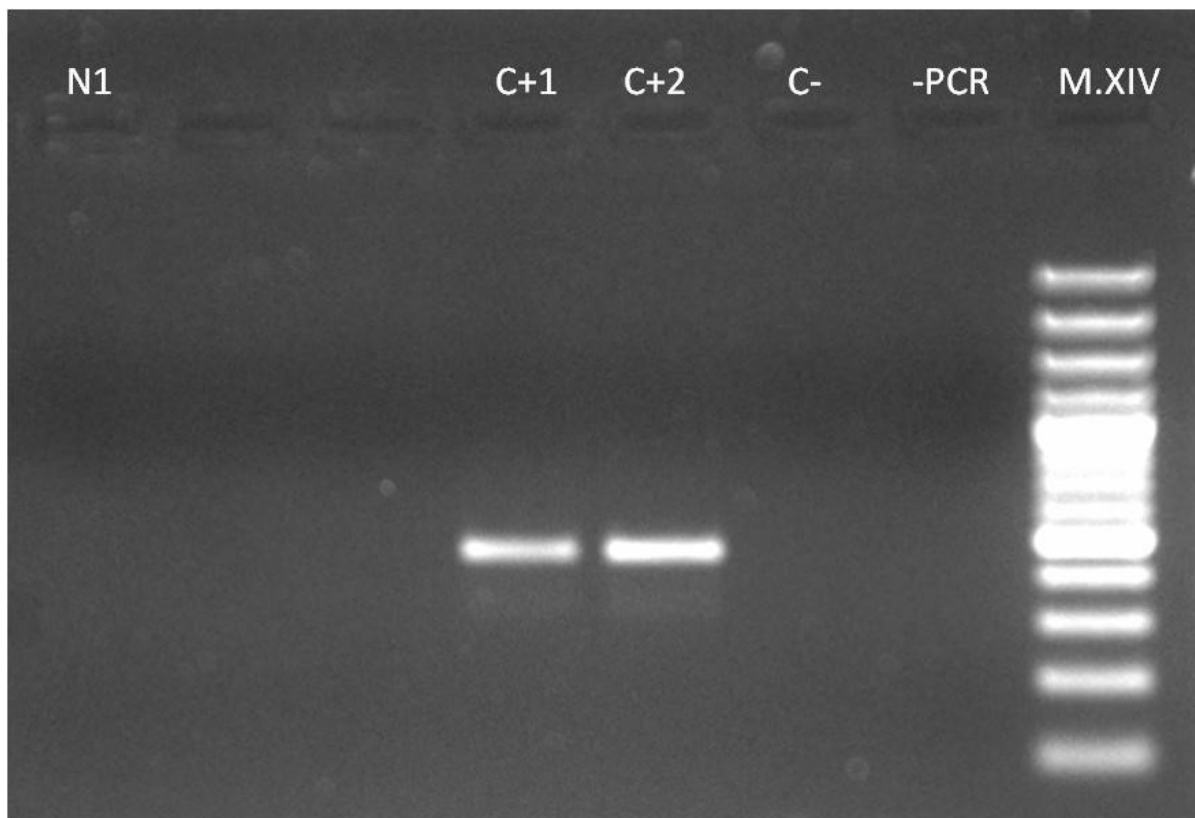


Comprobación del silenciamiento de la línea N1-FiPS4F#7 mediante *qRT-PCR* empleando los cebadores proporcionados por el *kit* de reprogramación *Cytotune*. Como control positivo (+ control) se emplearon fibroblastos recién infectados con los vectores derivados del virus Sendai.

Silencing test checked by using qRT-PCR and primers provided by the Cytotune kit. Immediately infected fibroblasts with Sendai virus-derived vectors were employed as positive control (+ Control).

Anexo 6: Test de micoplasma de la línea N1-FiPS4F#7.

Annex 6: Mycoplasma Test



- M.XIV = Marcador/*Marker*
- N1 = N1-FiPS4F#7
- C+1 y C+2 = controles positivos de micoplasma/ *positive controls*
- C-= control negativo de micoplasma/ *negative control*
- - PCR = control negativo de la PCR/ *PCR negative control*