

# **ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [FiPS] Ctrl1-Ep6F-5 EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES**

## ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

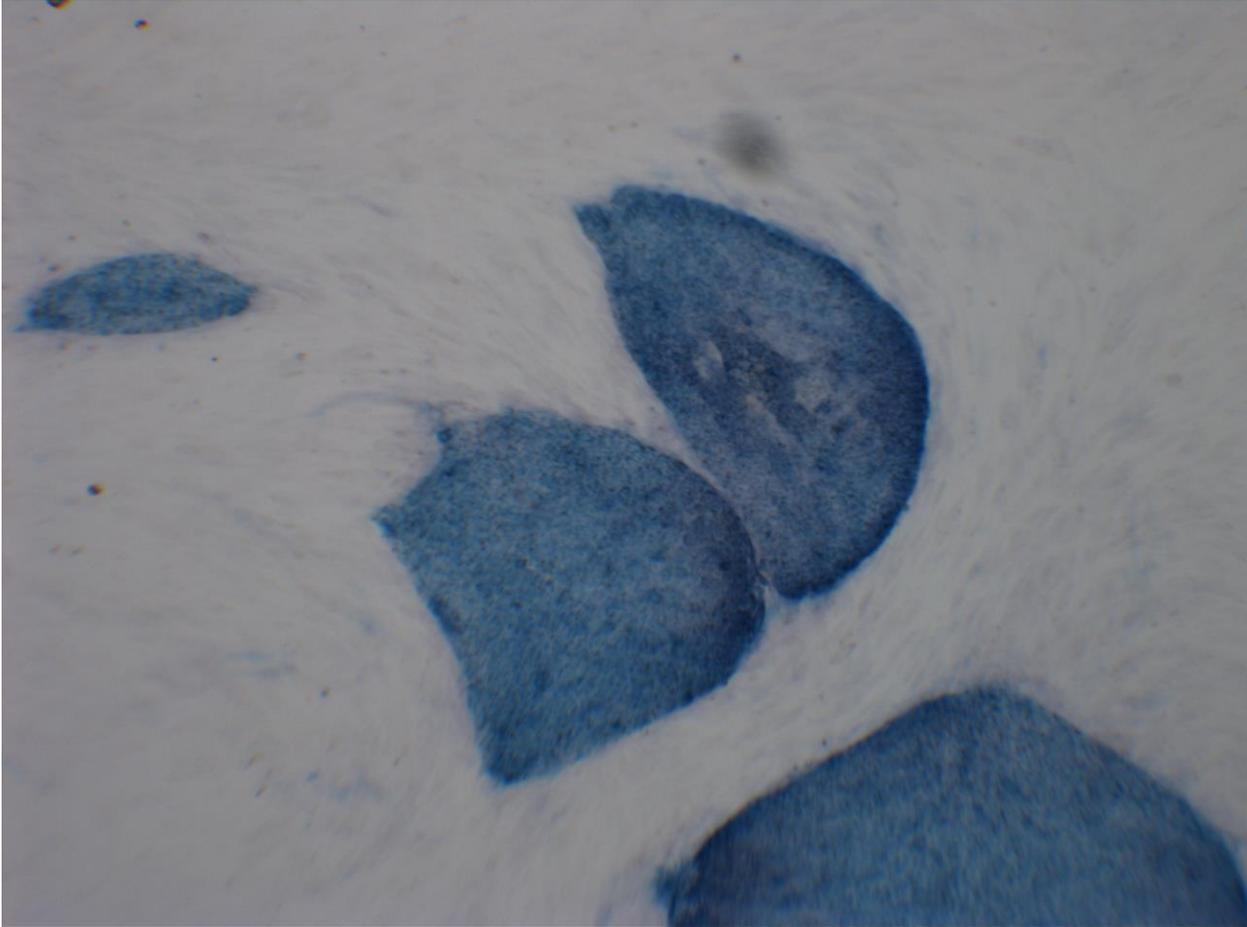
Anexo 4: Resultados microsatélites

Anexo 5: Test de integración

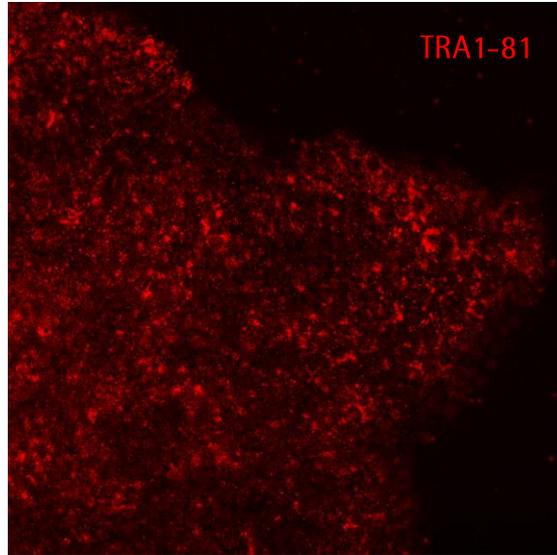
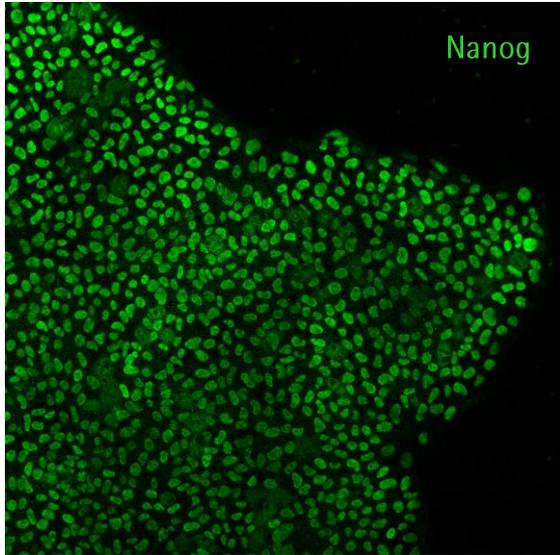
Anexo 6: Resultado test de micoplasma

## **Anexo 1**

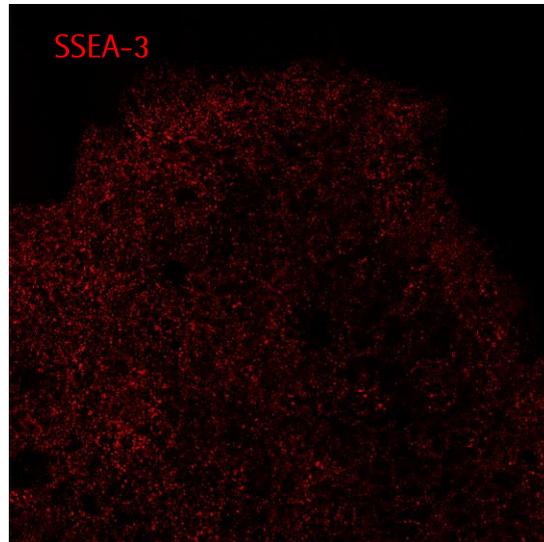
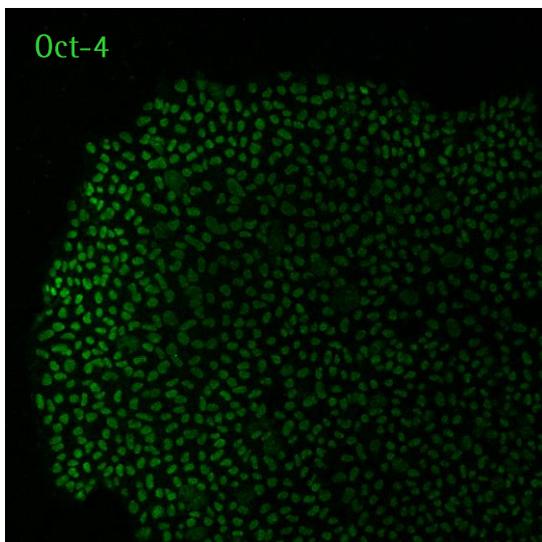
### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**



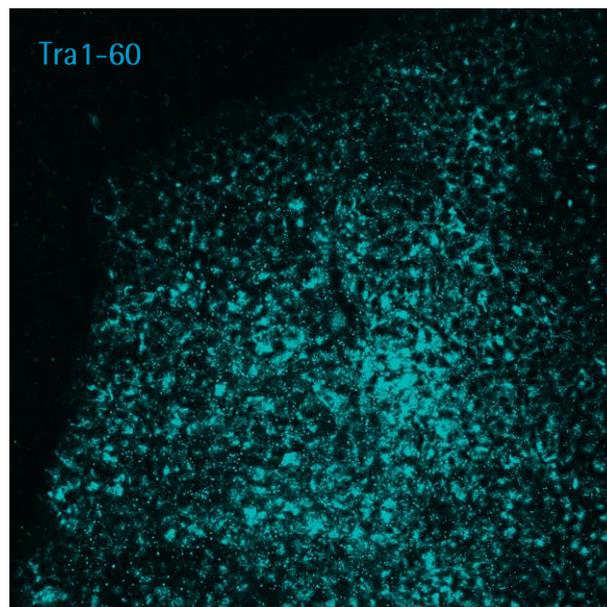
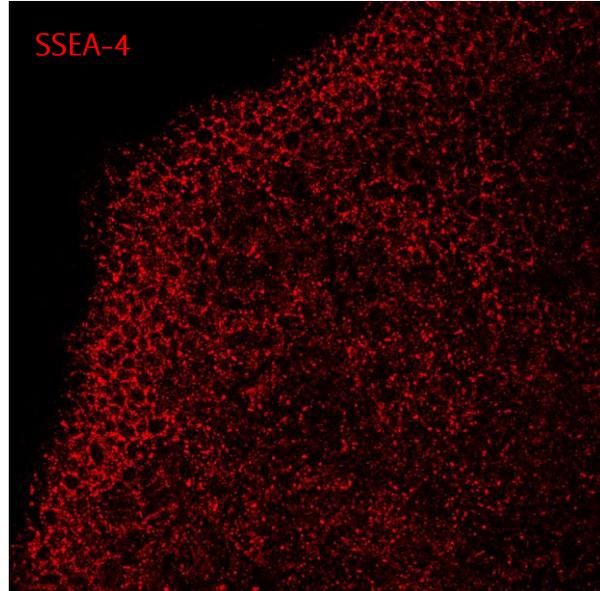
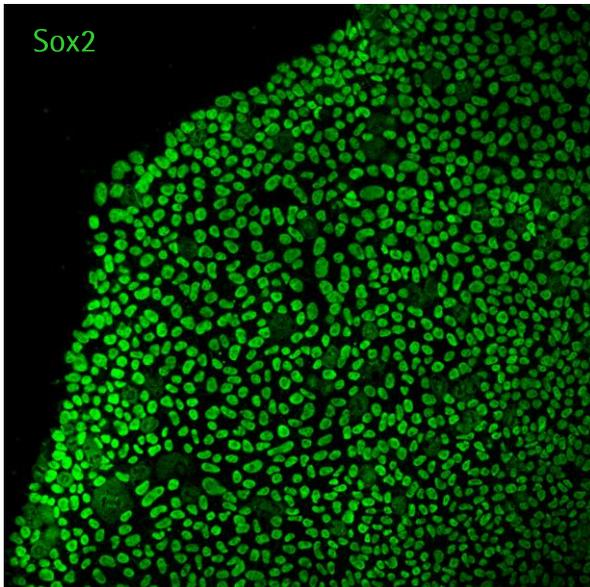
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



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**

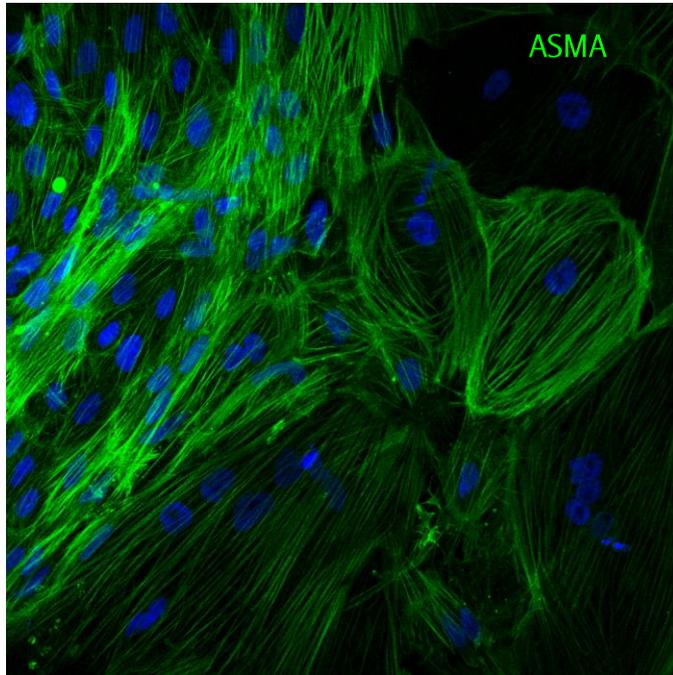


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

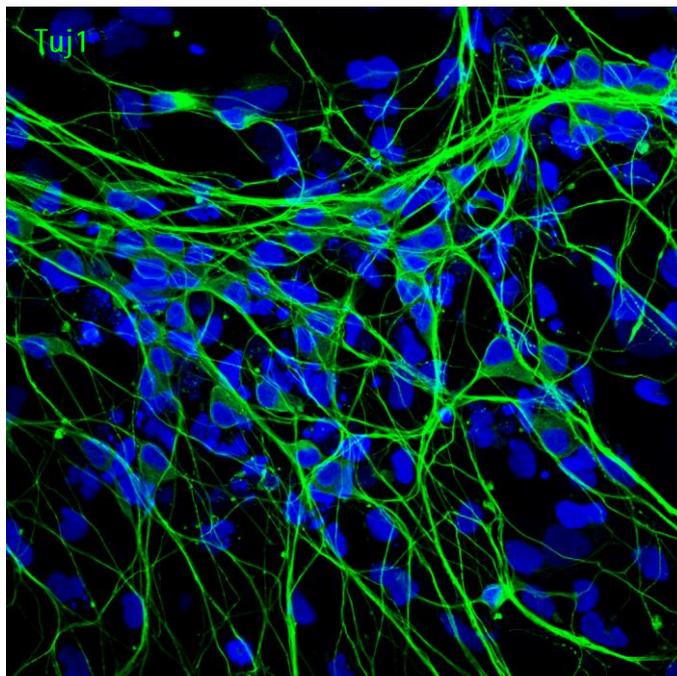
**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

## **Anexo 2**

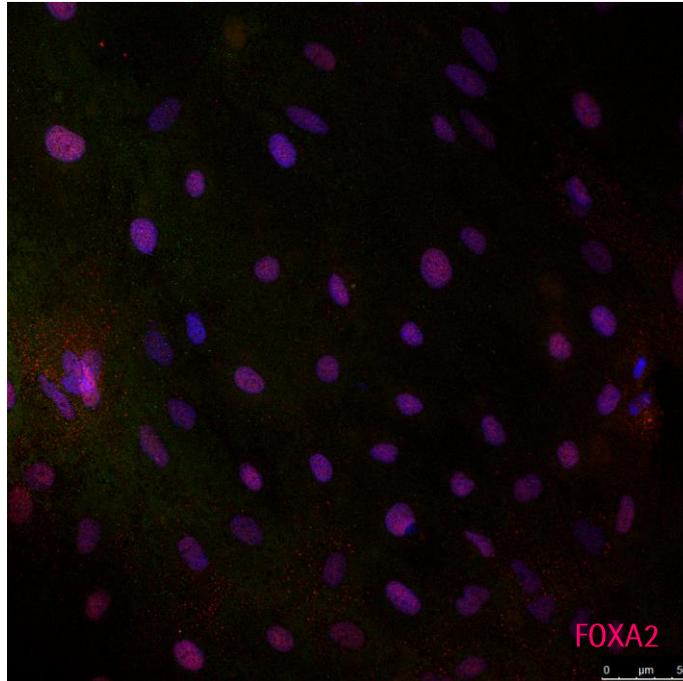
### **Diferenciación *in vitro***



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



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

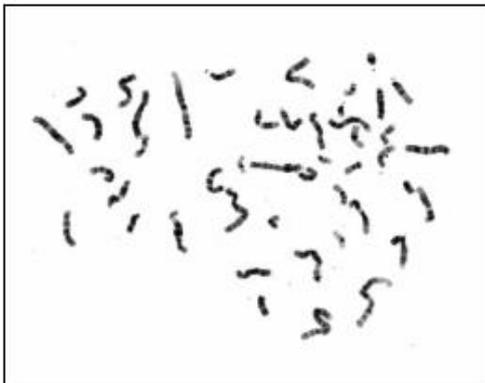
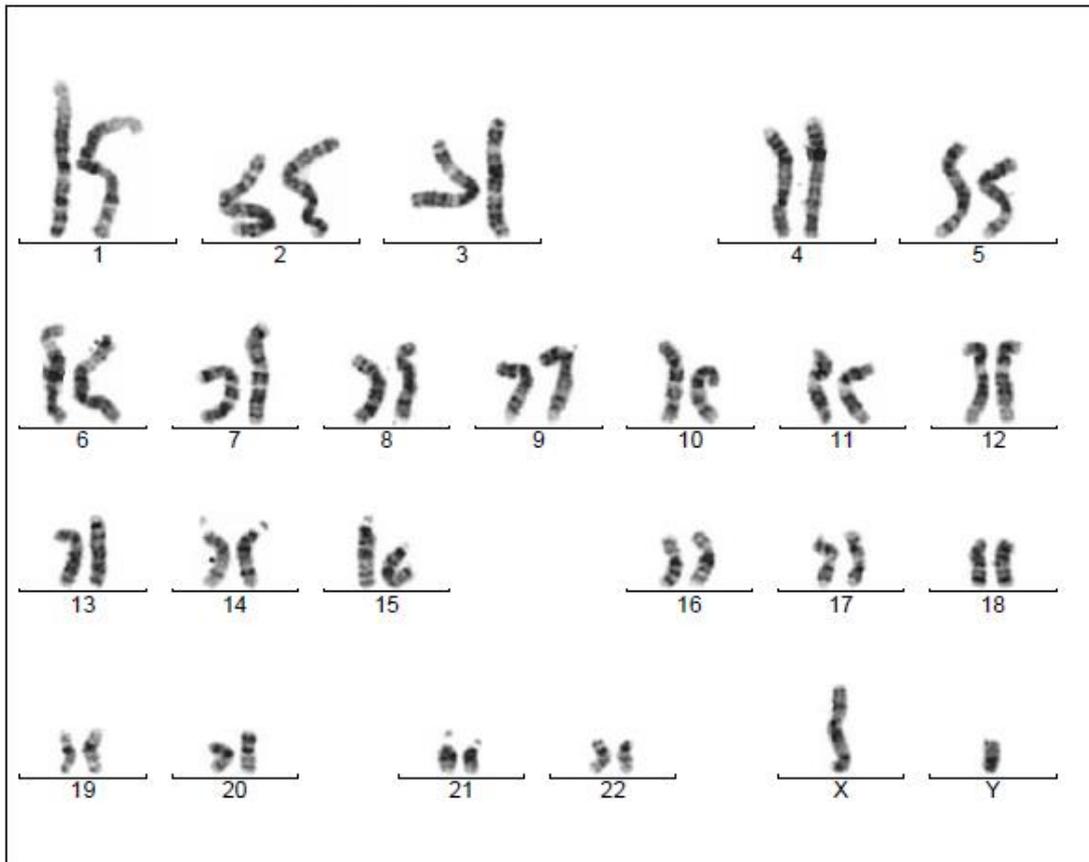


Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **FOXA2**

## **Anexo 3**

### **Cariotipo**

## Cytogenetic analysis



Case name: A171668

Patient name: FiPS Ctrl1-Ep6F-5 p12

Specimen type: stem cells

Result: 46,XY

## **Anexo 4**

### **Resultado microsatélites**



Table 5. The GenePrint® 10 System Allelic Ladder Information.

STR Locus	Label	Size Range of Allelic Ladder Components <sup>1,2</sup> (bases)	Repeat Numbers of Allelic Ladder Components
TH01	FL	156–195	4–9, 9.3, 10–11, 13.3
D21S11	FL	203–259	24, 24.2, 25, 25.2, 26–28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36–38
D5S818	JOE	119–155	7–16
D13S317	JOE	176–208	7–15
D7S820	JOE	215–247	6–14 <sup>3</sup>
D16S539	JOE	264–304	5, 8–15
CSF1PO	JOE	321–357	6–15
Amelogenin	TMR	106, 112	X, Y
vWA	TMR	123–171	10–22
TPOX	TMR	262–290	6–13

<sup>1</sup>The length of each allele in the allelic ladder has been confirmed by sequence analysis.

<sup>2</sup>When using an internal lane standard, such as the Internal Lane Standard 600, the calculated sizes of allelic ladder components may differ from those listed. This occurs because different sequences in allelic ladder and ILS components may cause differences in migration. The dye label also affects migration of alleles.

<sup>3</sup>HeLa cells have a microvariant allele 13.3 at the D13S317 locus. This will appear as an off-ladder allele (see [www.ncbi.nlm.nih.gov/strbase/var\\_D13S317.htm#Tri](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/strbase/var_D13S317.htm#Tri)).

Figura 1. Información de la casa comercial Promega sobre la relación entre cada uno de los loci STR amplificados y las repeticiones (en rangos de tamaño y número) que pueden estar presentes en dichos productos de PCR.

## RESULTADOS:

A continuación se detalla la correlación entre el código de muestra de Biobanco y la línea celular procesada:

código Biobanco	Línea celular
32160023033	FIPS Ctrl1-Ep6F-5 p15

En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a los alelos encontrados para cada uno de los marcadores microsatélites analizados.

Línea celular	Loci STR analizados										
	AMEL	CSF1PO	D13S317	D16S539	D21S11	D5S818	D7S820	TH01	TPOX	vWA	
FIPS Ctrl1-Ep6F-5 p15	X, Y	11, 12	12, 13	10, 11	29, 31.2	12, 13	10, 11	6	8, 10, 12.5	18	

Granada, a 21 de Marzo de 2016

Área de Biología Molecular  
 Biobanco del SSPA

## RESULTADOS:

A continuación se detalla la correlación entre el código de muestra de Biobanco y la línea celular procesada:

código Biobanco	Línea celular
32151906010	Ctrl1F-ABB p2

En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a los alelos encontrados para cada uno de los marcadores microsatélites analizados.

línea celular	Loci STR analizados									
	AMEL	CSF1PO	D13S317	D16S539	D21S11	D5S818	D7S820	TH01	TPOX	vWA
Ctrl1F-ABB p2	X,Y	11, 12	12, 13	10, 11	29, 31.2	12, 13	10, 11	6	8, 10, 12.5	18

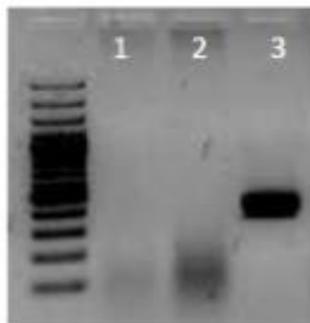
Análisis de microsatélites en la línea de células madre pluripotentes **FiPS Ctrl1-Ep6F-5** y en la línea de fibroblastos de la cual proceden.

## **Anexo 5**

### **Test de integración**

## PCR

24-02-2016



1. FiPS Ctrl1-Ep6F-5
2. Negative Control
3. Positive Control

Análisis mostrando la ausencia de secuencias de EBNA-1 de los vectores pCXLE

## **Anexo 6**

### **Resultado test de micoplasma**

## MYCOPLASMA TEST

09-03-2016



1. FiPS Ctrl1-Ep6F-5 p11
2. CT -
3. CT +