



# ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **Hz 3-7-15 CBiPS3-Sv4F-E9** EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

## **ANEXOS**

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

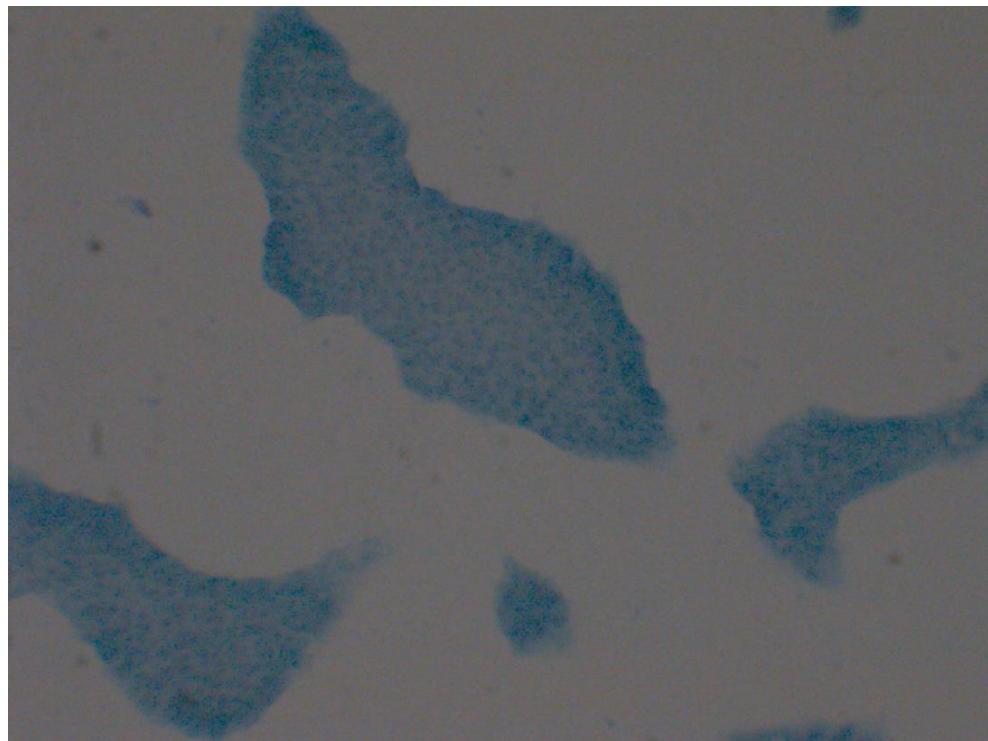
Anexo 4: Resultados microsatélites

Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

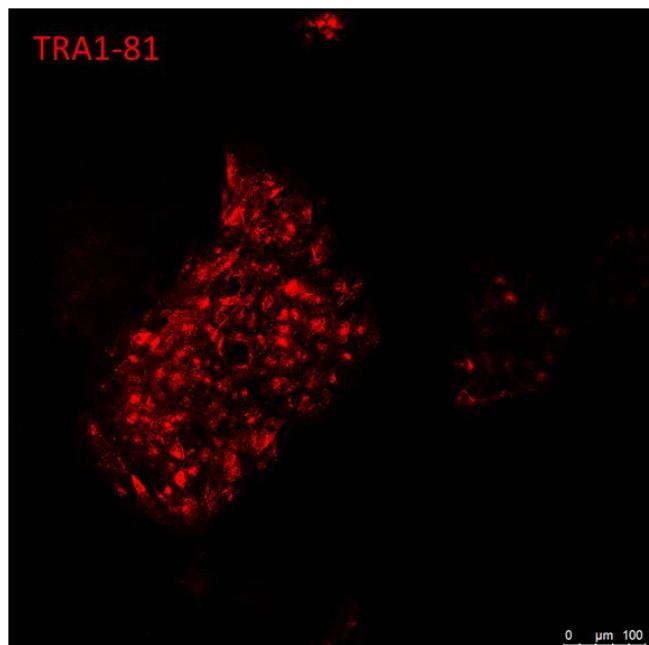
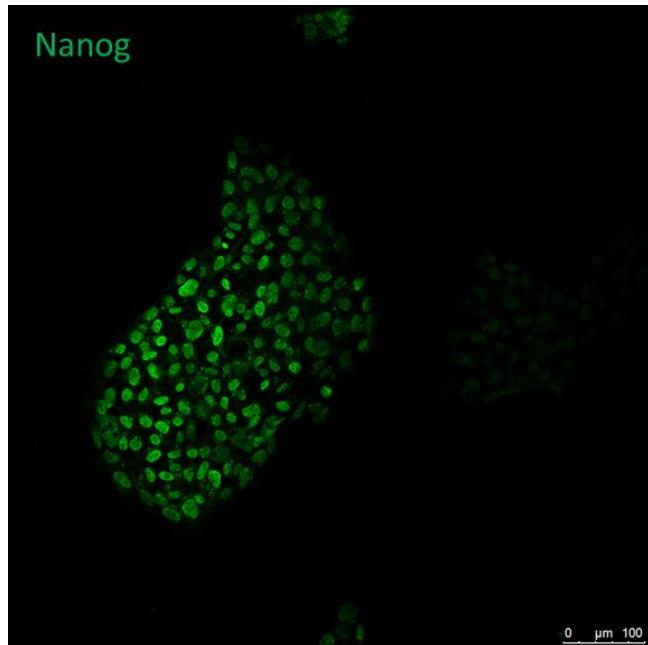
Anexo 6: Resultado test de micoplasma



**Anexo 1**  
**Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**

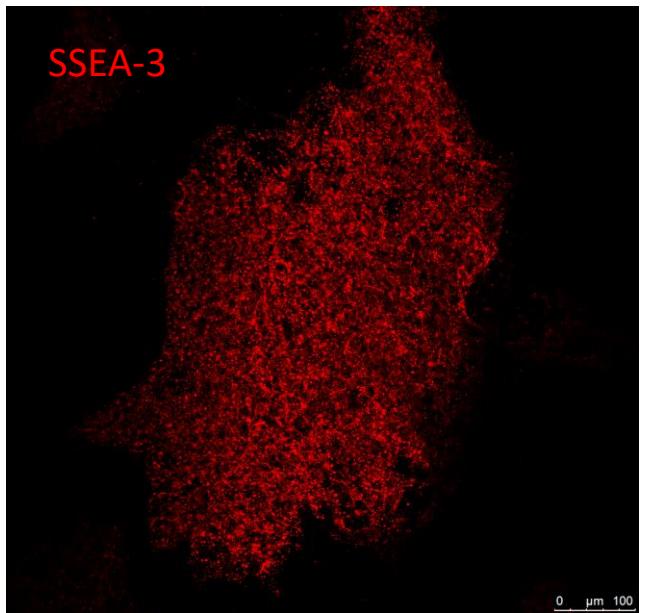
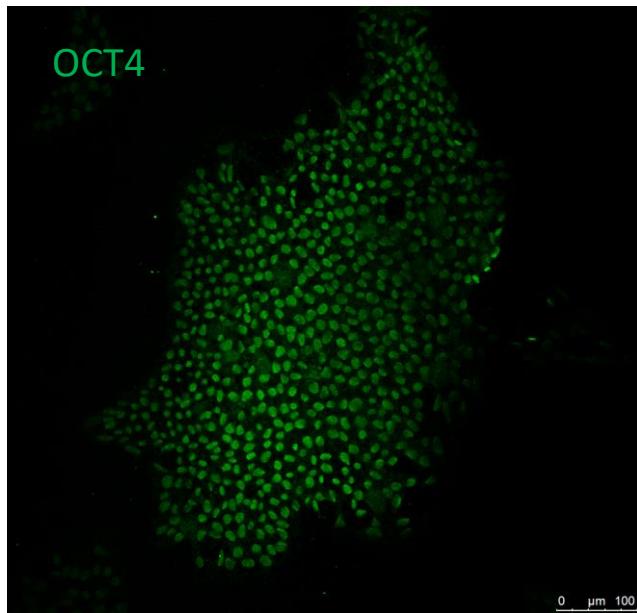


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



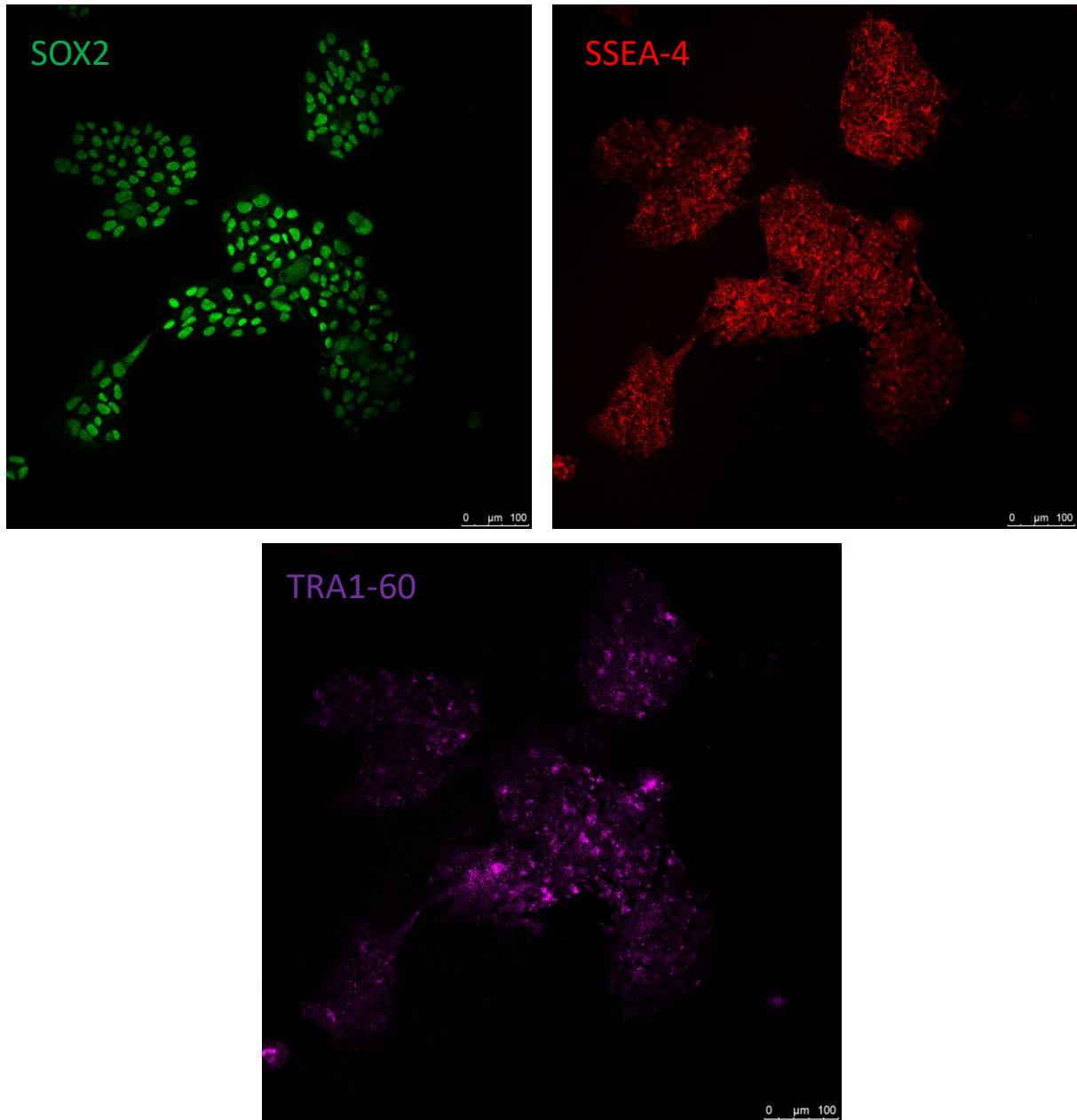
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**

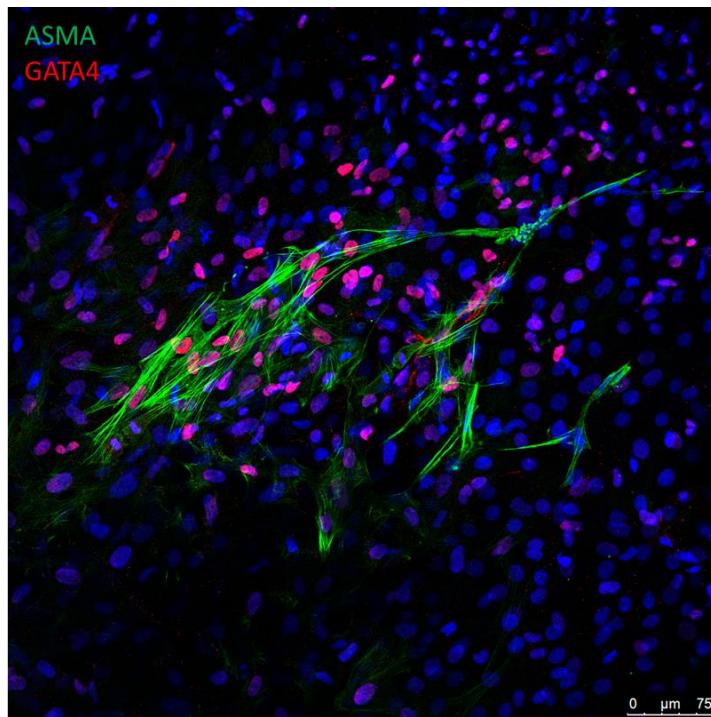


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

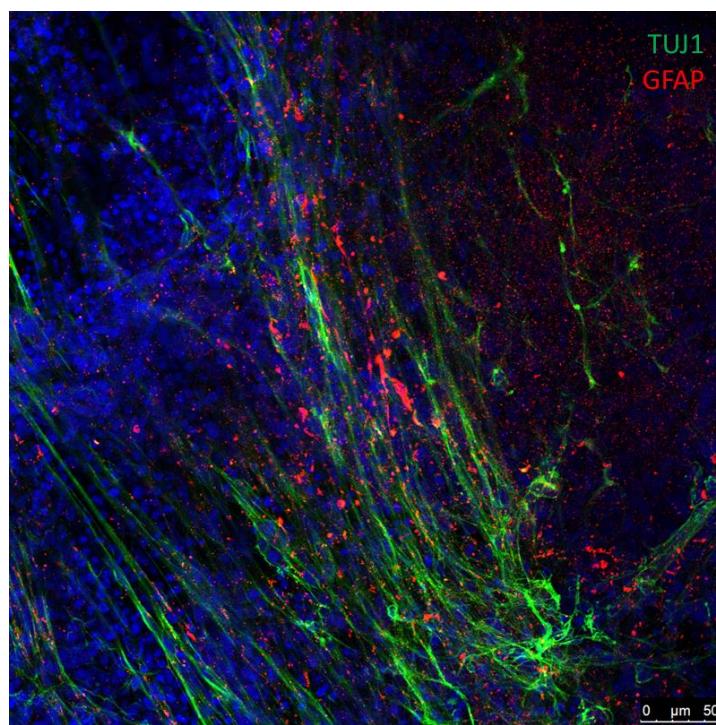
**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

## **Anexo 2**

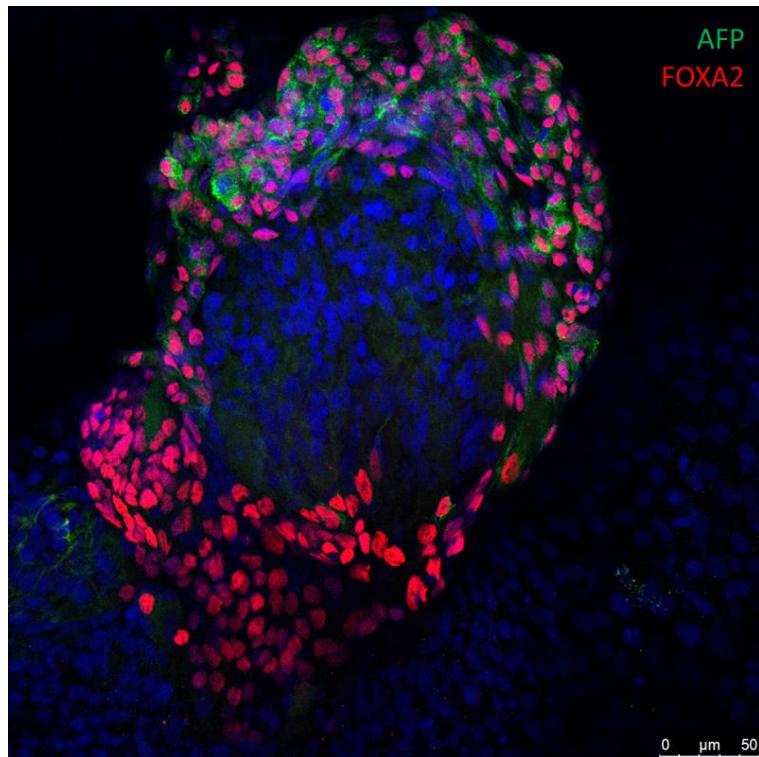
### **Diferenciación *in vitro***



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**

## ESTUDIO CITOGENETICO

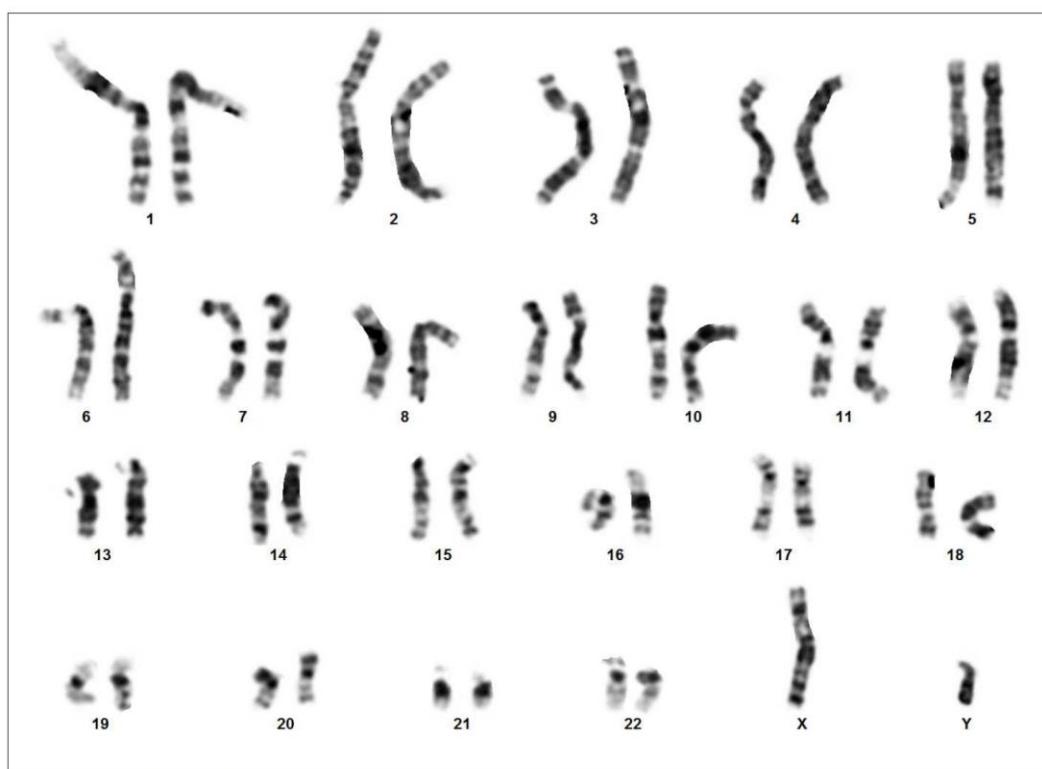
Case name: 11320908

Servicio: IDIBELL

NHC: CT0236

Tipo de muestra: CM

Nombre y Apellidos: Hz3-7-15CBiPS3-Sv4F-E9p13



Case: 11320908 Slide: 2 Cell: 3F

Resultado: 46,XY



**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	Locí STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
Hz 3-7-15 CBiPS3-Sv4F-E9	8; 9.3	28; 31	13	11	9; 11	9; 11	10; 11	X; Y	14; 18	8

## 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	Locí STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
CD34 3/7/15 Sv inf, 12.02.21	8; 9.3	28; 31	13	11	9; 11	9; 11	10; 11	X; Y	14; 18	8

Barcelona, a 24 de marzo de 2021

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en las células CD34+ de las que procede.



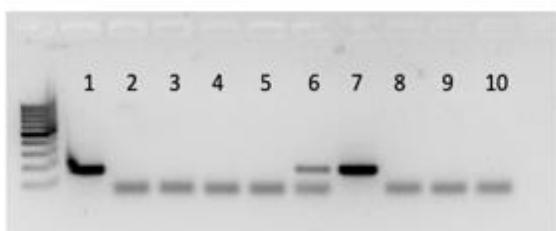
## Anexo 5

### **Ausencia de los transgenes de reprogramación**

RT-PCR, iPS-PANIA 3-7-15  
CTS Sendai 2.1

26.04.2021

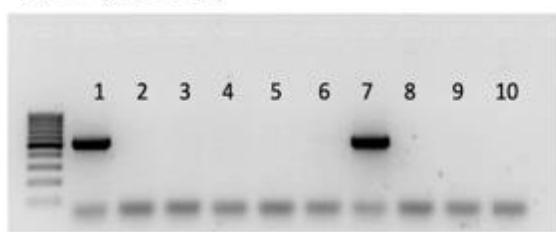
Sev (181 bp)



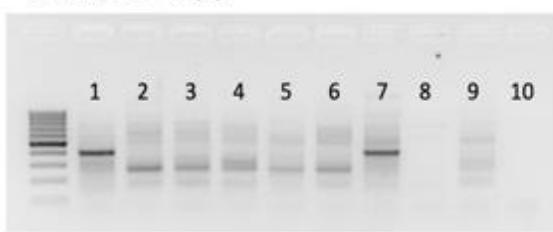
L-Myc (237 bp)



KOS (528 bp)



Klf4 (237 bp)



GAPDH



1. Control + SENDAI 2.1
2. Hz-3-7-15 CBiPS3 Sv4F #E4, P12, 19.04.21
3. Hz-3-7-15 CBiPS3 Sv4F #E7, P11, 19.04.21
4. Hz-3-7-15 CBiPS3 Sv4F #E8, P8, 29.03.21
5. Hz-3-7-15 CBiPS3 Sv4F #E9, P11, 19.04.21
6. Hz-3-7-15 CBiPS3 Sv4F #E7, P9, 07.04.21
7. CD34 3-7-15, Sv-Inf, E1e, 12.02.21
8. Sample NO RT
9. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE)
10. H<sub>2</sub>O

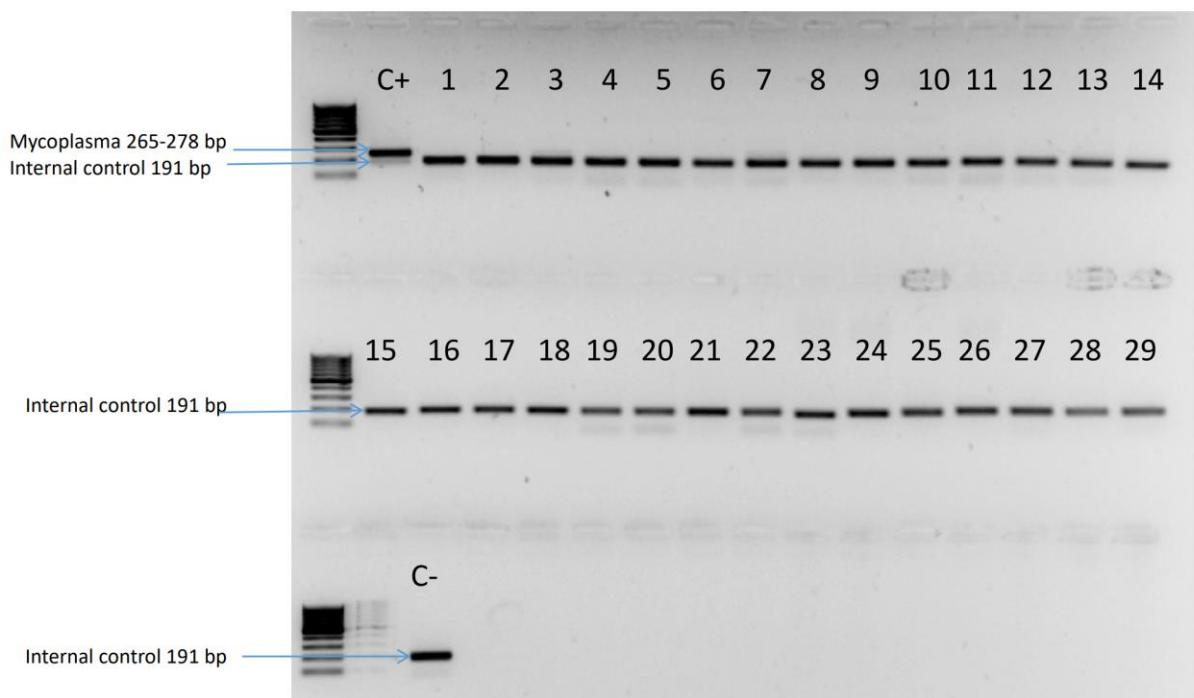
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



## **Anexo 6**

### **Resultado test de micoplasma**

**Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 10/03/2021**



7. Hz 3-7-15 CBiPS3-Sv4F-E9

Hz 3-7-15 CBiPS3-Sv4F-E9