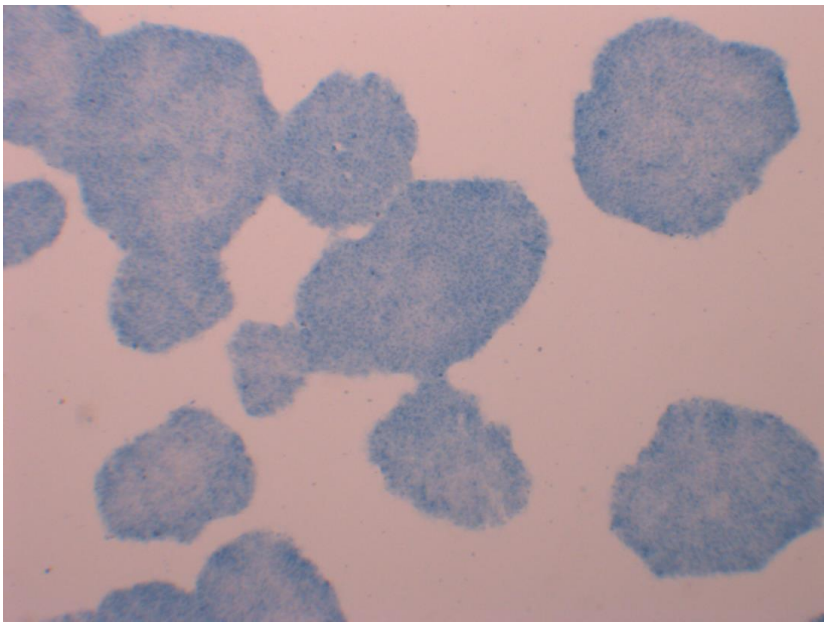
ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **Rb20234-C17** EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANEXOS

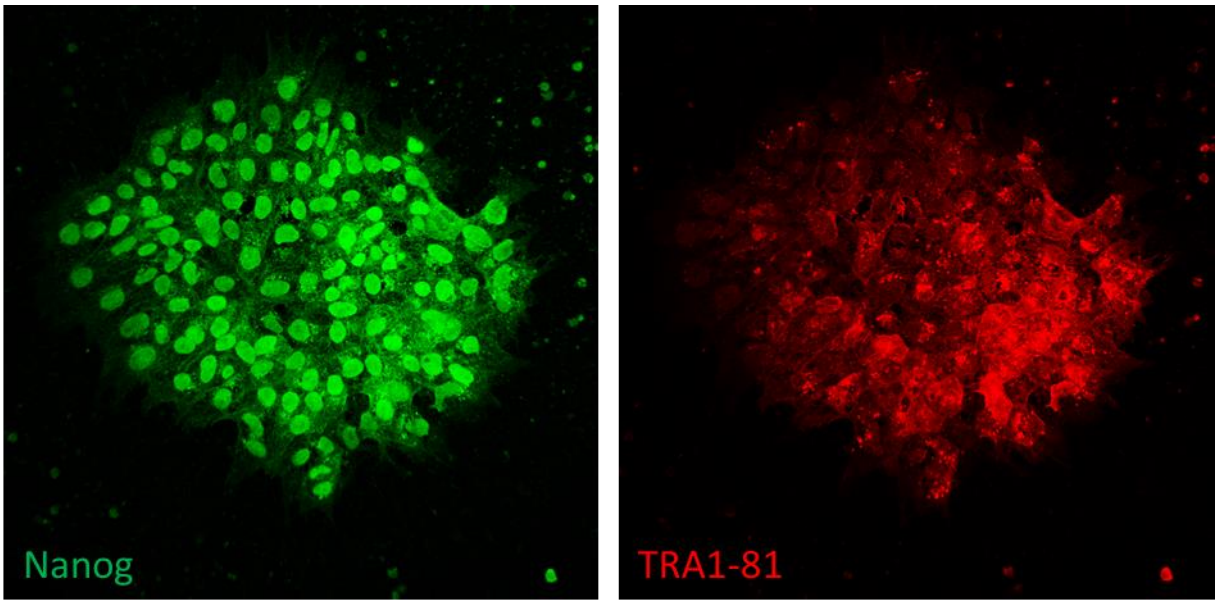
Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia
Anexo 2: Diferenciación *in vitro*
Anexo 3: Cariotipo
Anexo 4: Resultados microsatélites
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación
Anexo 6: Presencia de la mutación de las células originales
Anexo 7: Resultado test de micoplasma

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

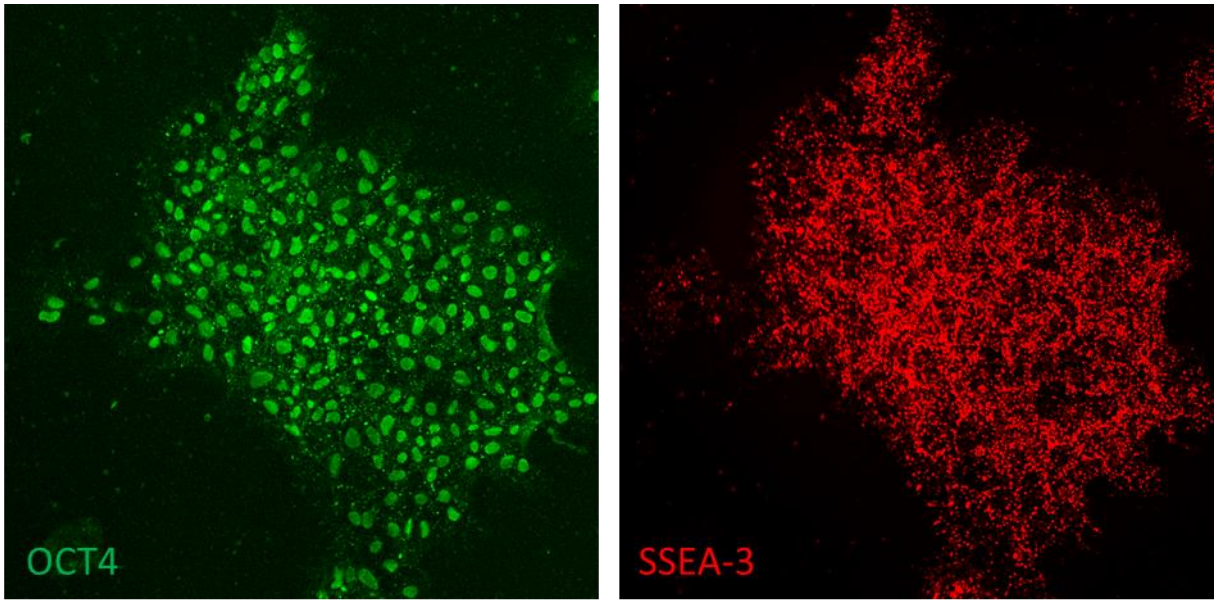


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



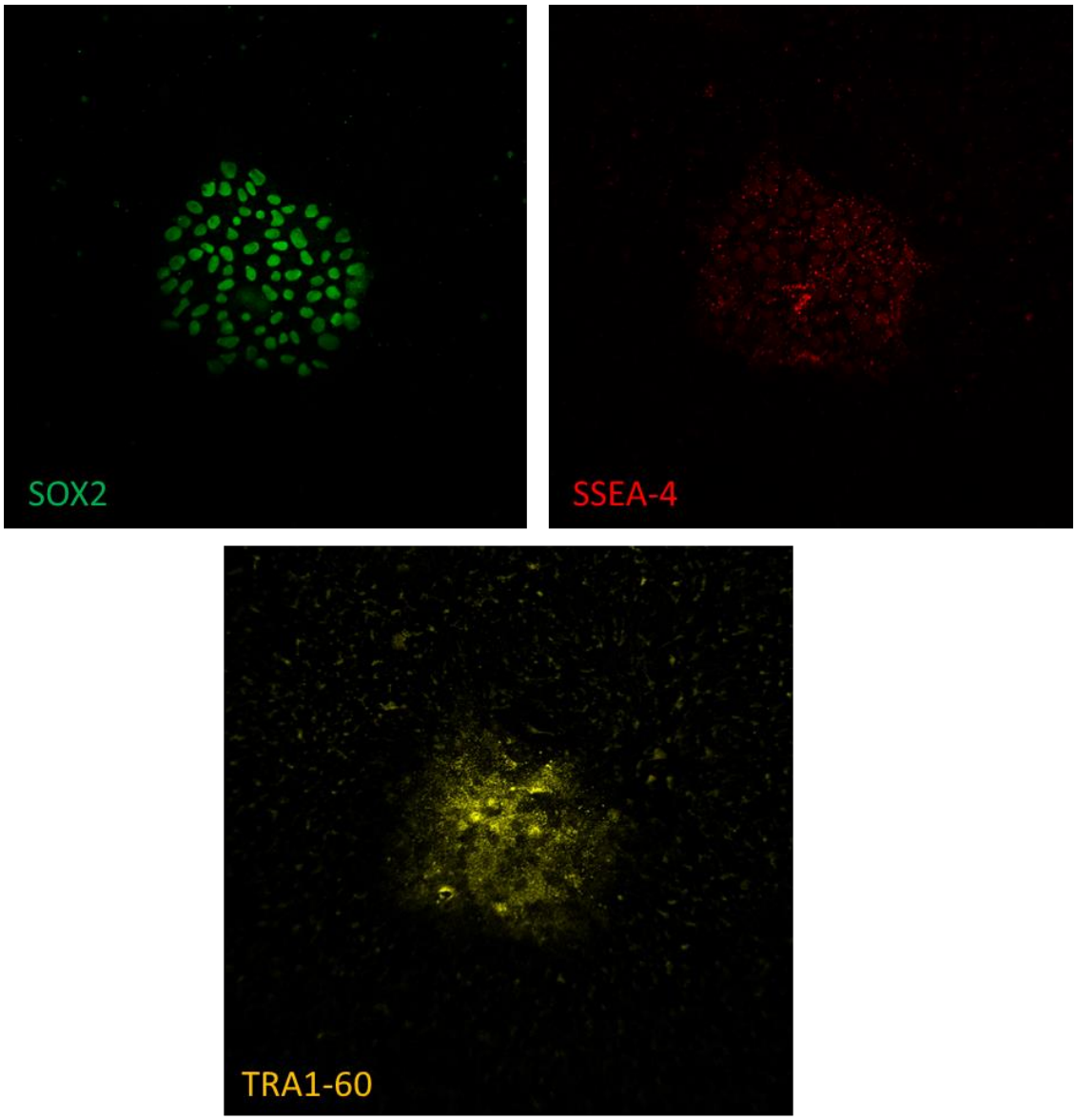
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y **TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

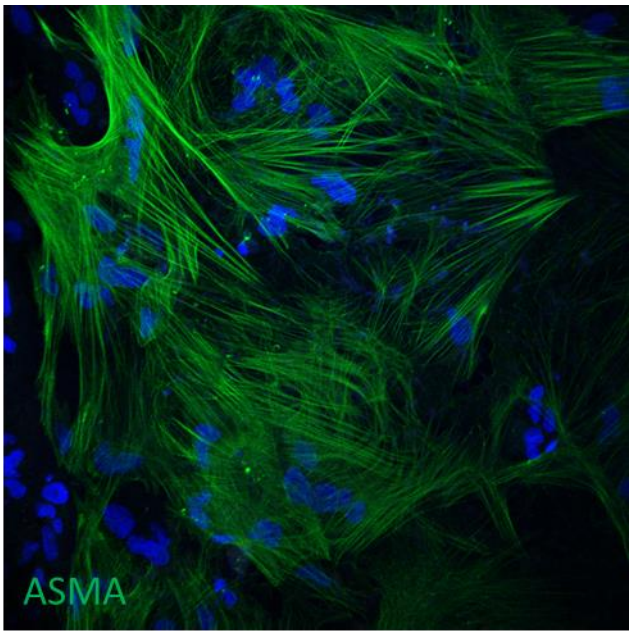
Oct-4 y **SSEA-3**



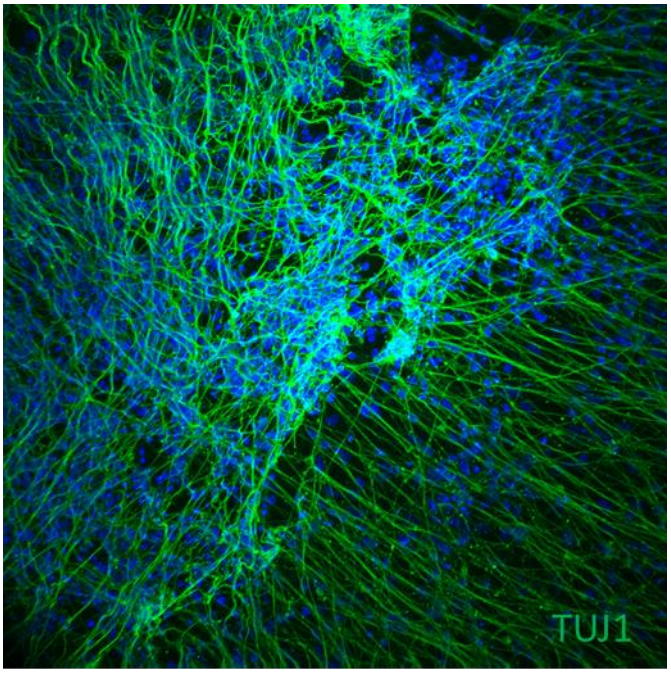
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **Sox-2**, **SSEA-4** y **TRA1-60**

Anexo 2

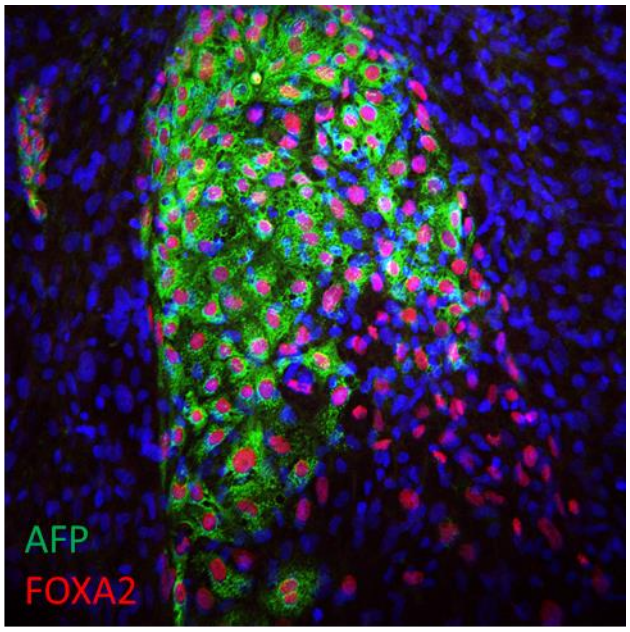
Diferenciación *in vitro*



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 **AFP y FOXA2**

Anexo 3

Cariotipo

SJD Sant Joan de Déu Barcelona · Hospital

ESTUDIO CITOGENETICO

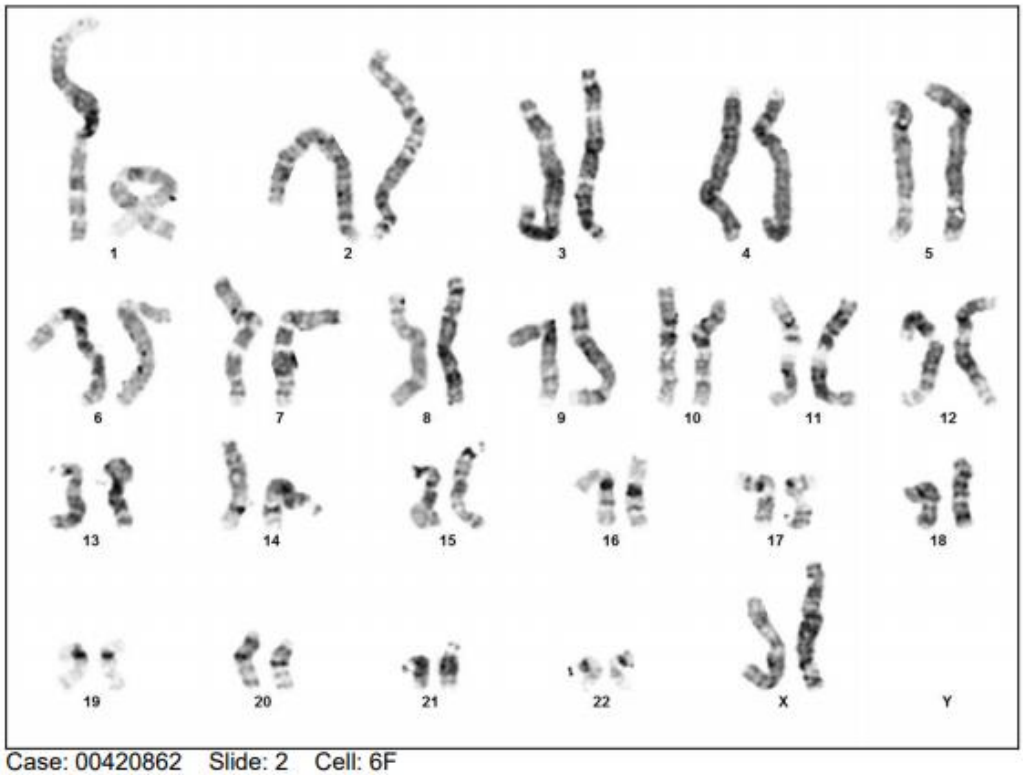
Case name: 00420862

NHC: CT0127

Nombre y Apellidos: Rb20234-C17 p15

Servicio: IDIBELL

Tipo de muestra: CM



Case: 00420862 Slide: 2 Cell: 6F

Resultado: 46,XX

Anexo 4

Resultado microsatélites

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

		Loci STRs analizados									
Código biobanco	**Código origen del ADN de la línea celular**	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
INVN02520A013ADNA002	Rb20234-C17 p12	7;9,3	27;32,2	11,12	8;12	8;9	13	10;11	X	15;18	8;11

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

		Loci STRs analizados									
Código biobanco	**Código origen del ADN de la línea celular**	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
INVN02520A017ADNA002	Rb20234	7;9,3	27;32,2	11;12	8;12	8;9	13	10;11	X	15;18	8;11

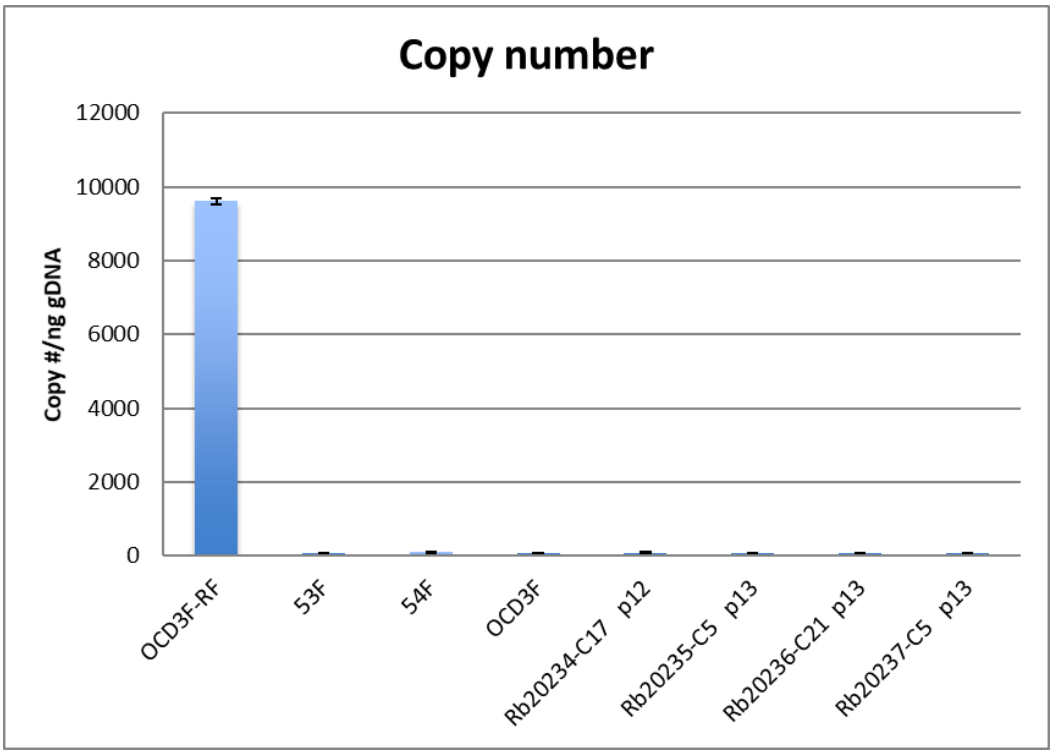
Granada, a 23 de Marzo de 2020

Laboratorio de Biología Molecular
Biobanco del SSPA

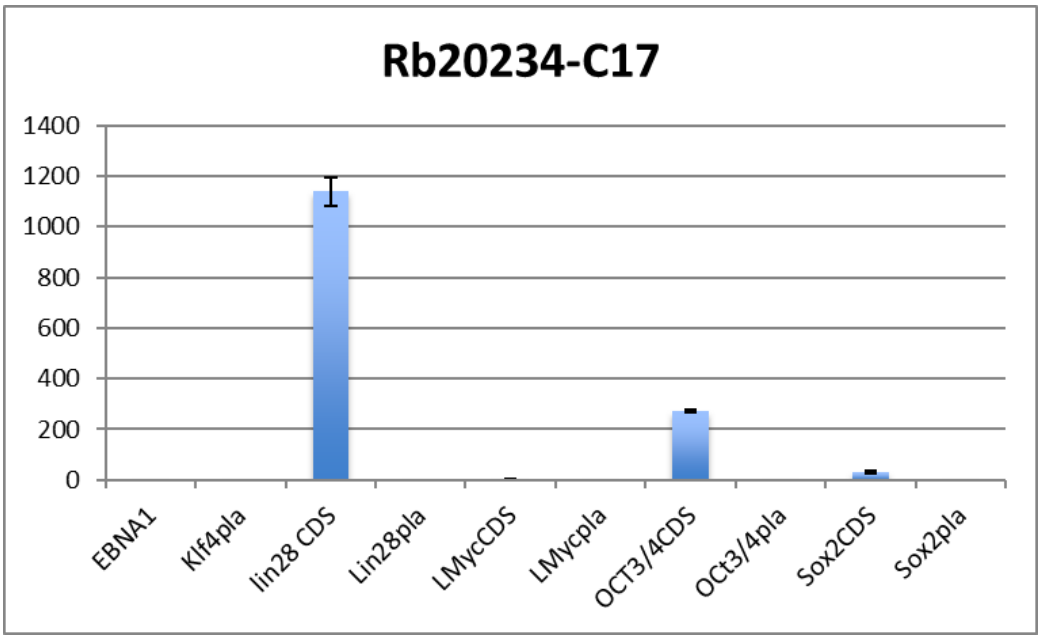
Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.

Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea **Rb20234-C17** y en fibroblastos control no-nucleofectados (**53F y 54F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección (**OCD3F-RF**).



Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **Rb20234-C17**

Anexo 6

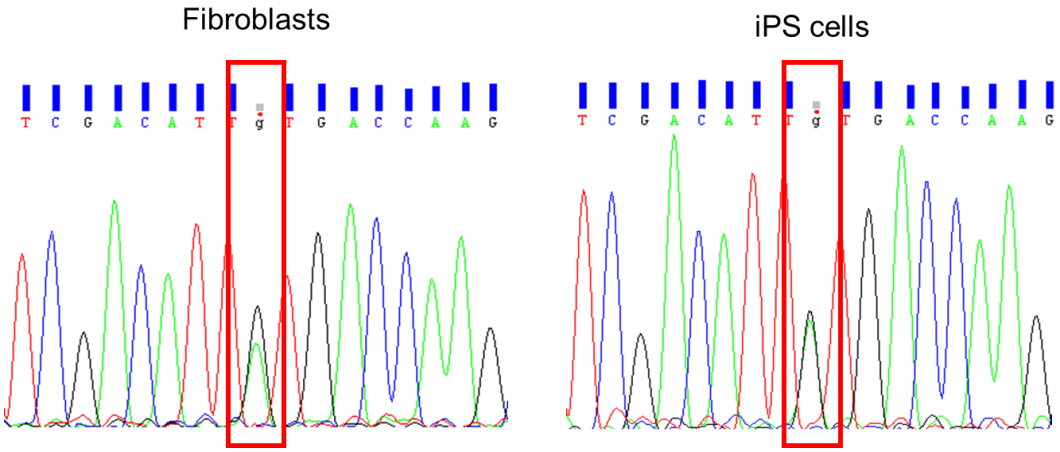
Presencia de la mutación de las células originales

SCN5A gene, exon 27 13 WT

TGAAGAAGCTGGGCTCCAAGAAGCCCCAGAAGCCCATCCCACGGCCCCTGAACAA
GTACCAGGGCTTCATATTCGACATT**G**TGACCAAGCAGGCCTTTGACGTCACCATC
ATGTTTCTGATCTGCTTGAATATGGTGACCATGATGGTGGAGACAGATGACCAAA

SCN5A gene, exon 27 Patient BrS Rb20234-C17 (c.4573G>A , in heterozygosis)

TGAAGAAGCTGGGCTCCAAGAAGCCCCAGAAGCCCATCCCACGGCCCCTGAACAA
GTACCAGGGCTTCATATTCGACATT**G/A**TGACCAAGCAGGCCTTTGACGTCACCA
TCATGTTTCTGATCTGCTTGAATATGGTGACCATGATGGTGGAGACAGATGACCA

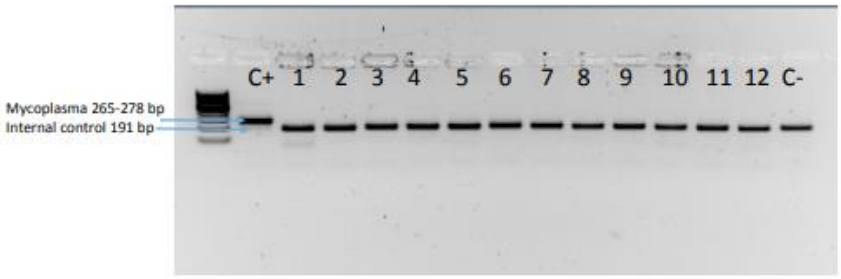


Detalle de la mutación que presentan los fibroblastos del paciente y que coincide con la observada en la línea de iPSC generada

Anexo 7

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 15/01/2020



1. G15.AO p17
2. G15.AO p38
3. OCD FiPS3-Ep6F-6 p5
4. Rb20234-C17 p10
5. Rb20235-C5 p11
6. iPSC-CoQ4mut-clone14 p27
7. iPSC-CoQ4mut-clone 34 p40
8. G15.A0 1
9. G15.AO 2
10. K1
11. K2
12. K3