



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **MD FiPS3304-Sv4F-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: Ausencia de los transgenes de reprogramación

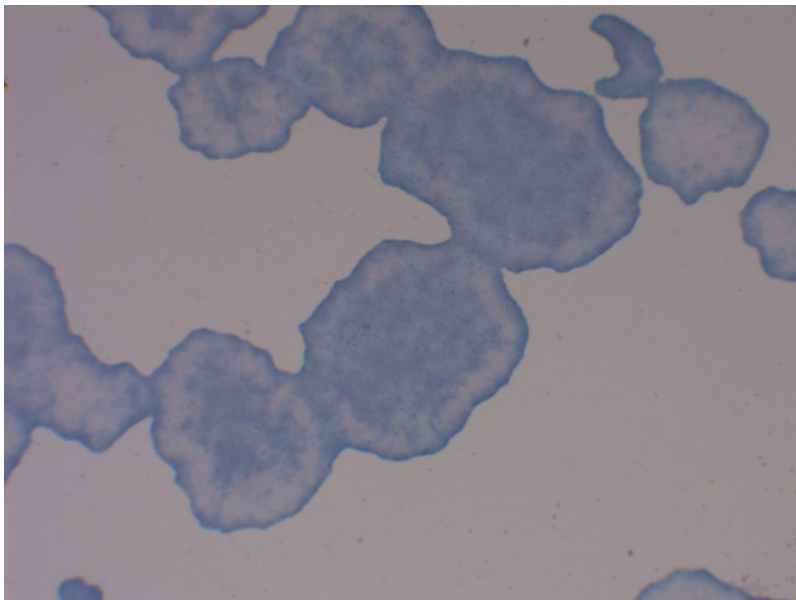
Anexo 6: Confirmación de la presencia de la mutación

Anexo 7: Resultado test de micoplasma

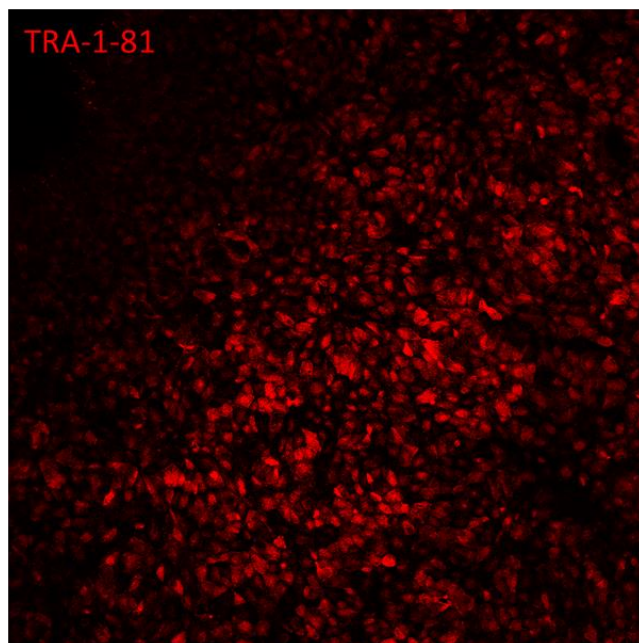
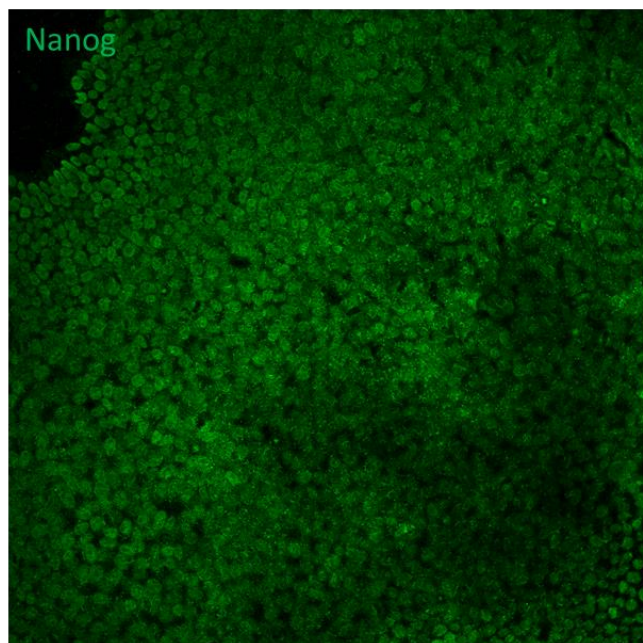


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

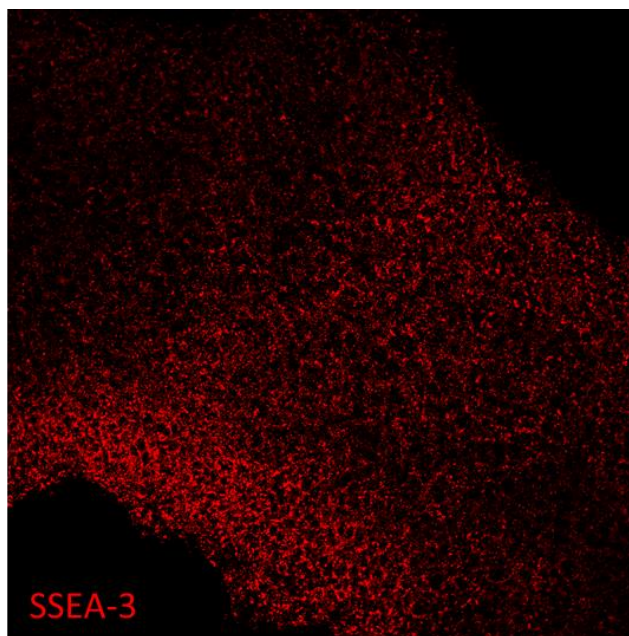
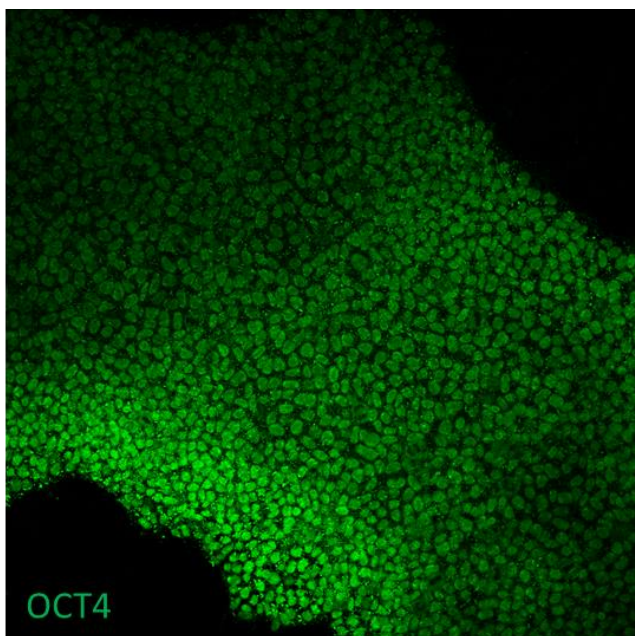


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



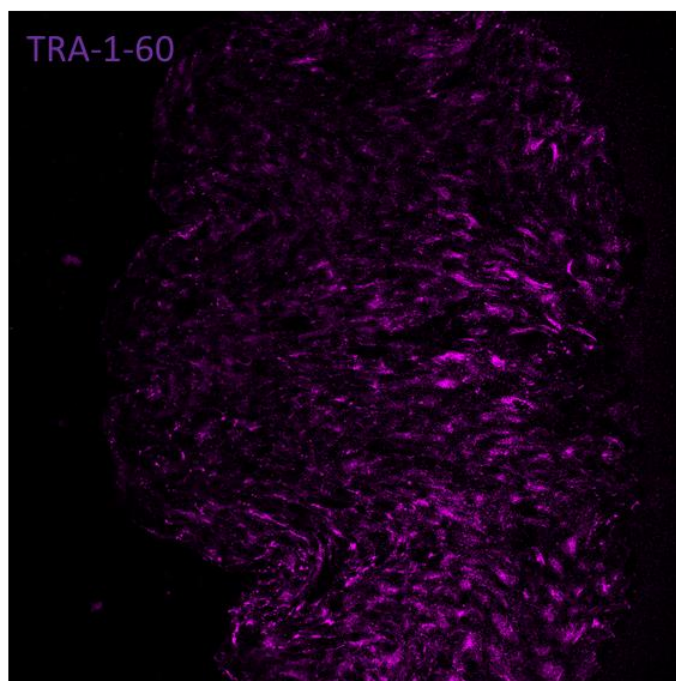
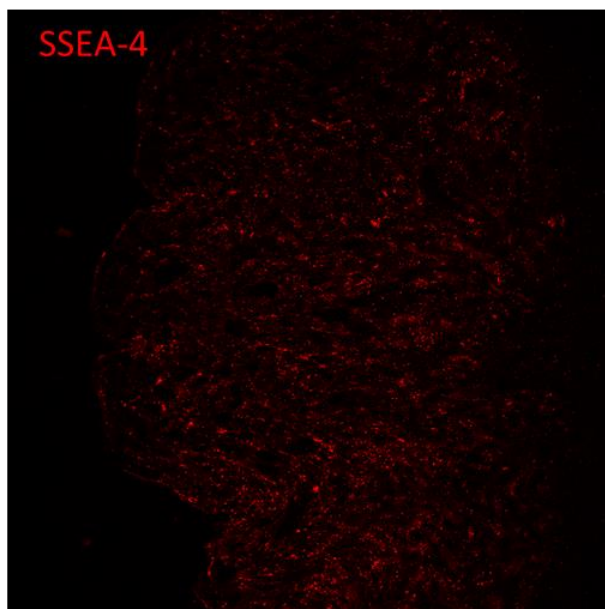
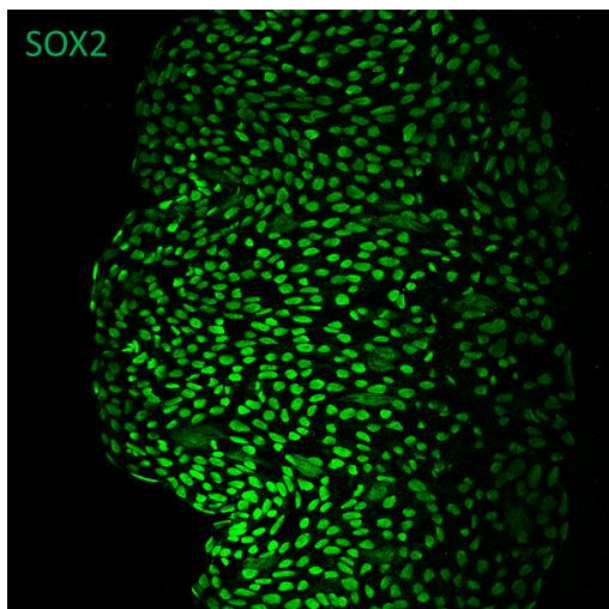
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



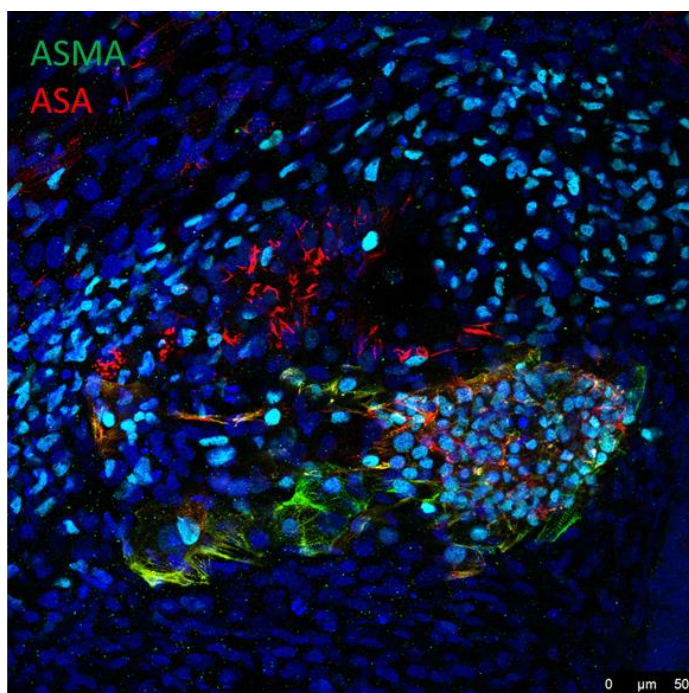
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

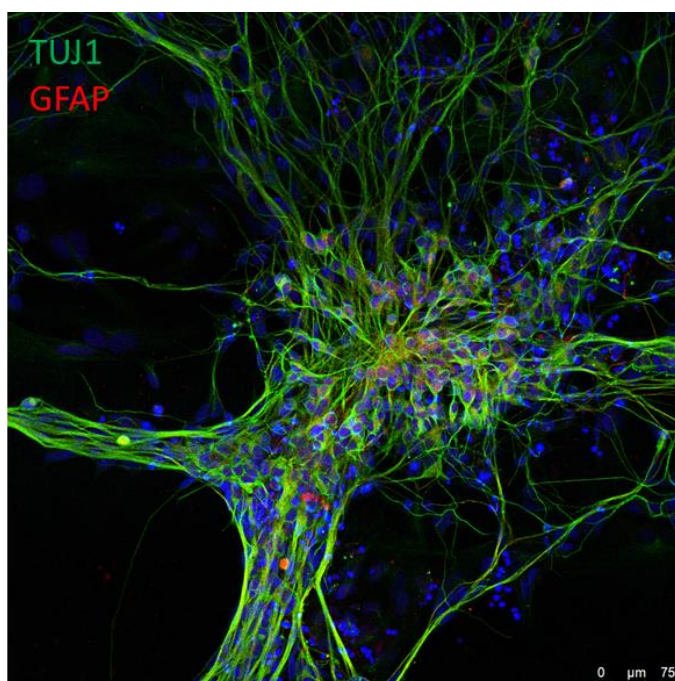


Anexo 2

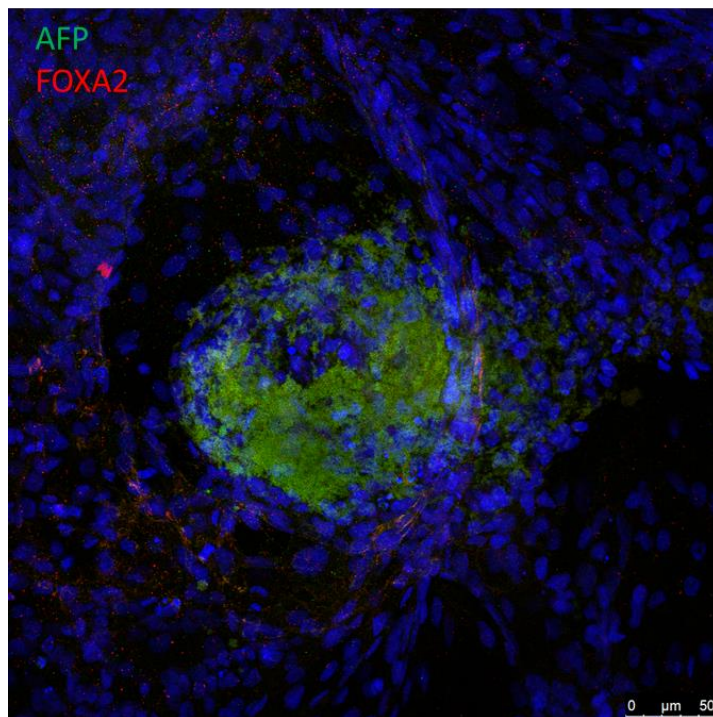
Diferenciación *in vitro*



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



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

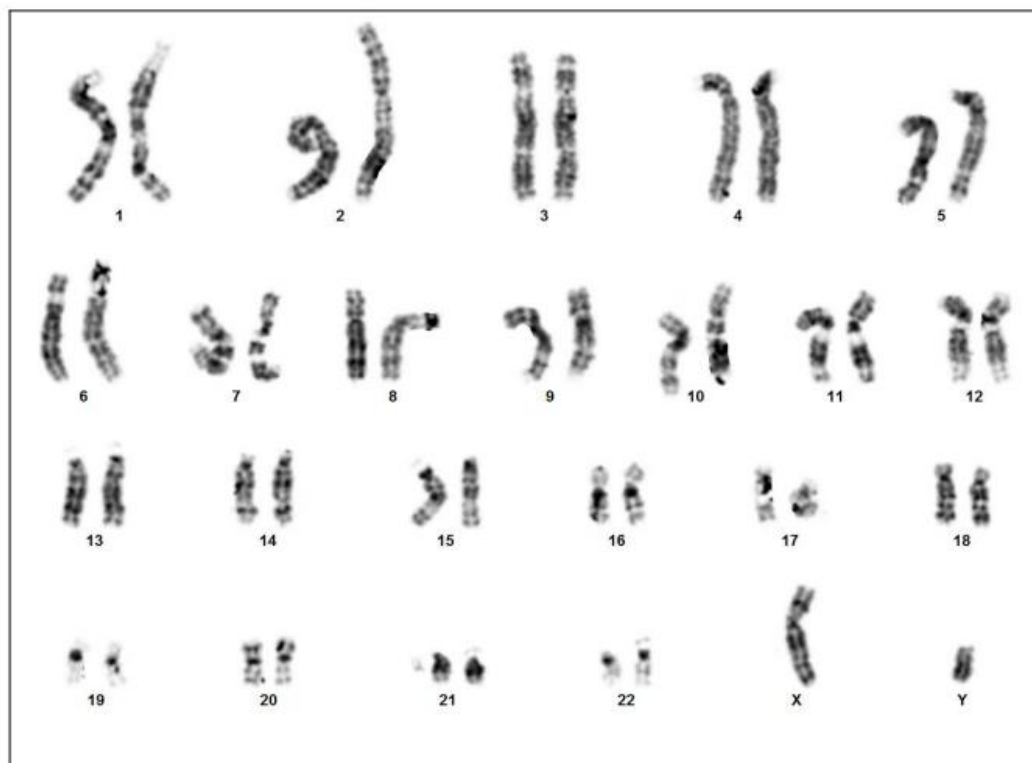
Case name: 10321044

Servicio: IDIBELL

NHC: CT0205

Tipo de muestra: CM

Nombre y Apellidos: MD FiPS3304-Sv4F-5 p14



Case: 10321044 Slide: 1 Cell: 3

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	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
MD FiPS3304-Sv4F-5 p14	6; 8	29; 31	10; 13	9; 10	9; 11	12; 13	9; 10	X; Y	16; 17	8; 11

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	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
MD Fb 3304, P5, 22.07.20	6; 8	29; 31	10; 13	9; 10	9; 11	12; 13	9; 10	X; Y	16; 17	8; 11

Barcelona, a 25 de noviembre de 2020

Laboratorio Biología Molecular

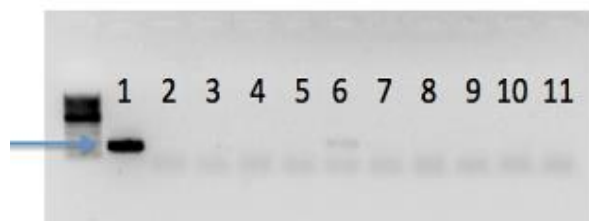
P-CMRC

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

Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

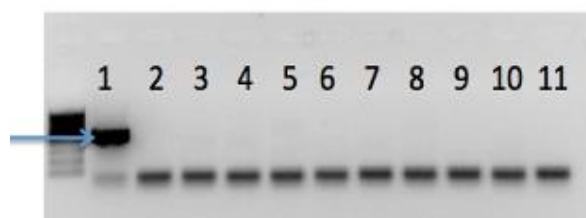
Sev (181 bp)



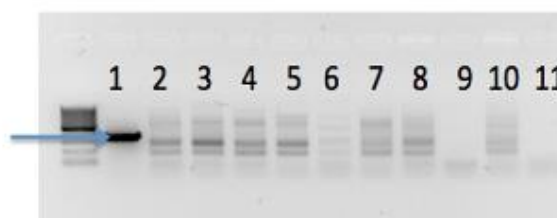
c-Myc (532 bp)



KOS (528bp)



Klf4 (410 bp)



GAPDH



RT-PCR SENDAI 2.0 29/10/2020

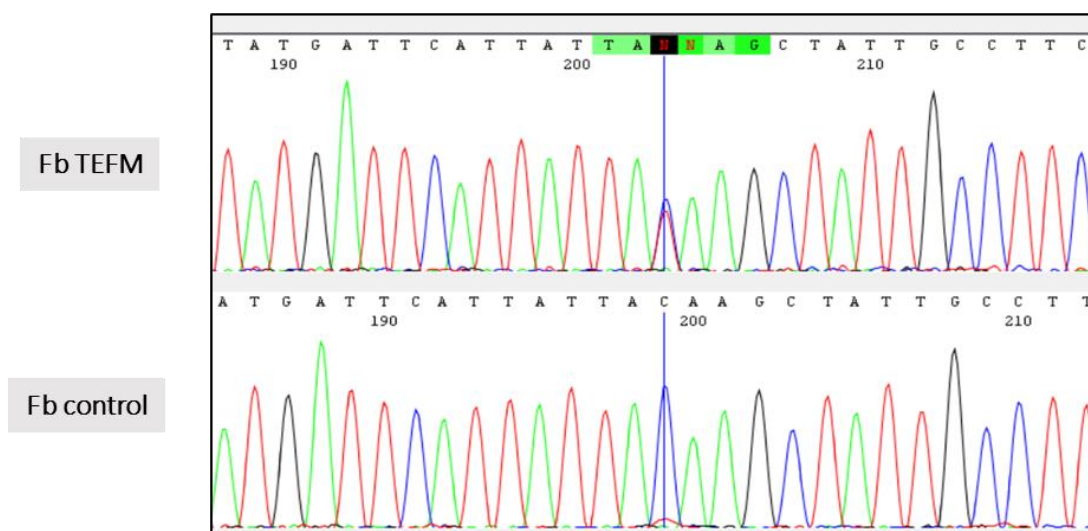
1. Control + SENDAI 2.0
2. MD FiPS3304 Sv4F-1, P11, mg, 19.10.20
3. MD FiPS3304 Sv4F-2, P9, mg, 23.10.20
4. MD FiPS3304 Sv4F-5, P9, mg, 19.10.20
5. MD FiPS3304 Sv4F-6, P9, mg, 19.10.20
6. MD FiPS3304 Sv4F-7, P9, mg, 19.10.20
7. MD FiPS3304 Sv4F-10, P8, mg, 19.10.20
8. MD FiPS3304 Sv4F-12, P9, mg, 26.10.20
9. Sample 2 NO RT
10. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE)
11. H2O

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

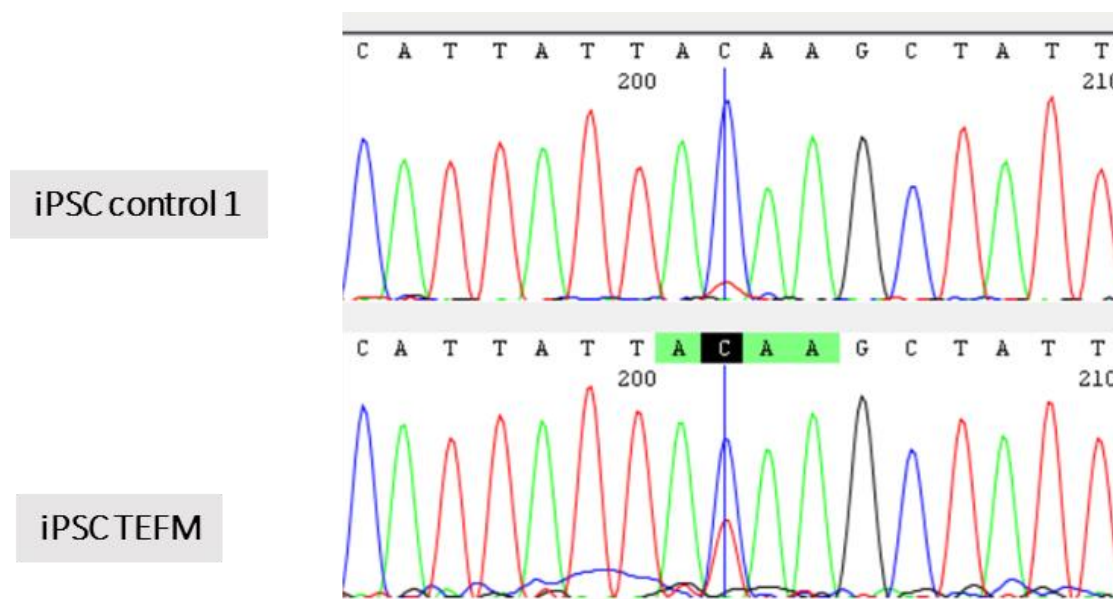


Anexo 6

Confirmación de la presencia de la mutación



Presencia de la mutación TEFM (C.1036C>T) en fibroblastos



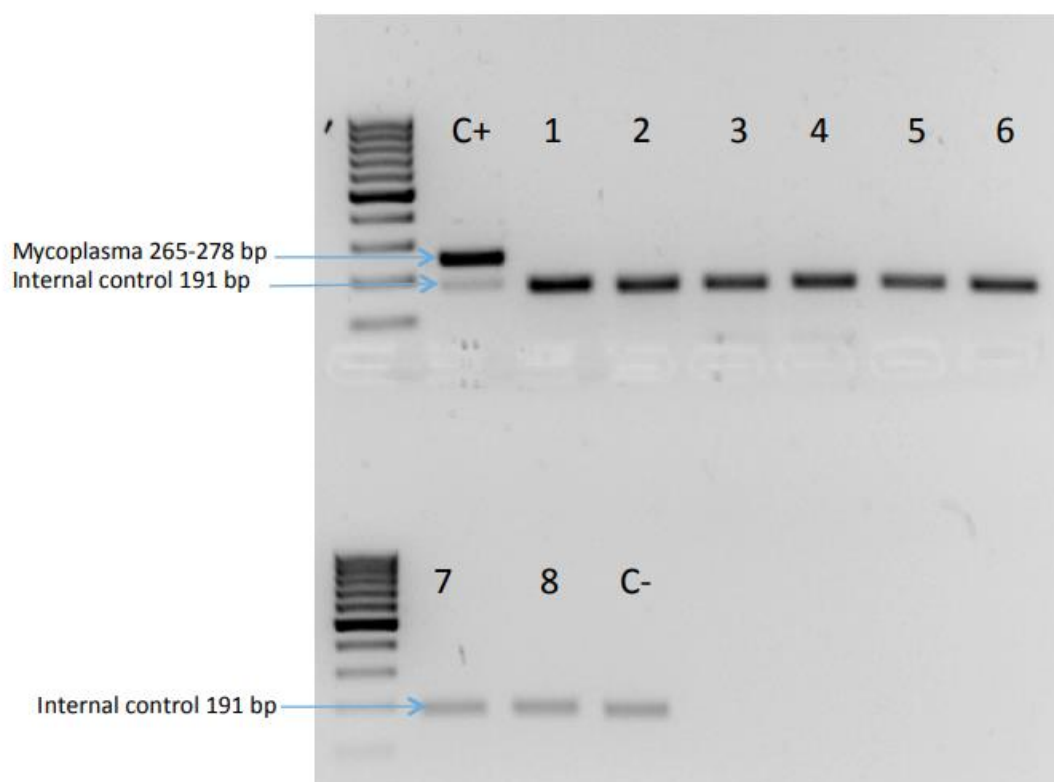
Presencia de la mutación TEFM en iPSC (iPSC TEFM corresponde a MD FiPS3304-Sv4F-5)



Anexo 7

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 13/01/2021



1. MD FiPS3236-Sv4F-9 p15
2. MD FiPS3304-Sv4F-5 p11