

**ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR NW FiPSC 10.II.3-R4F-H3 EN EL
BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES**

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

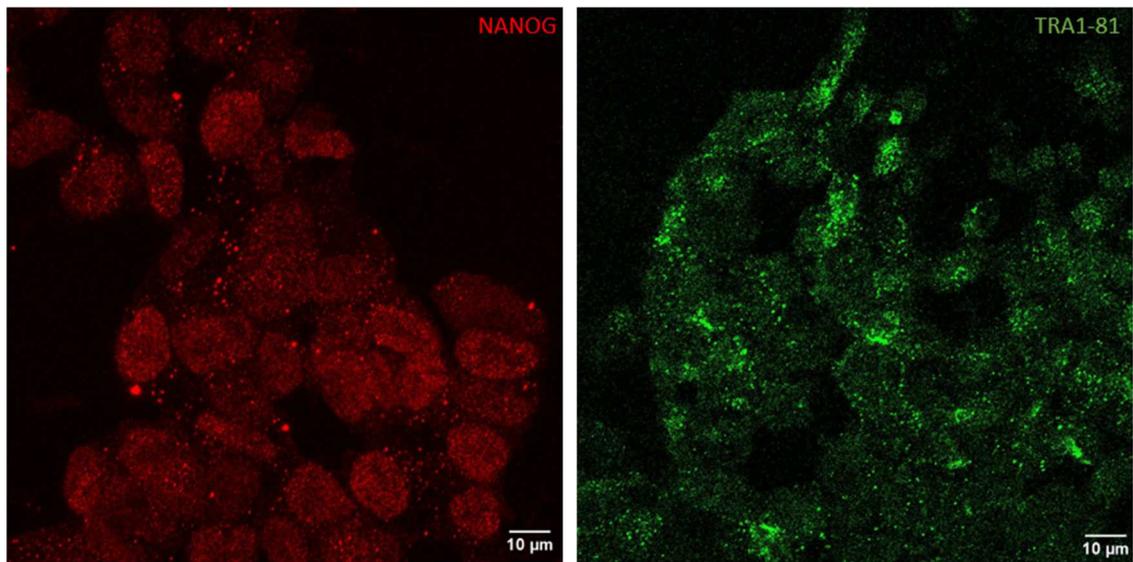
Anexo 4: Resultados microsatélites

Anexo 5: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

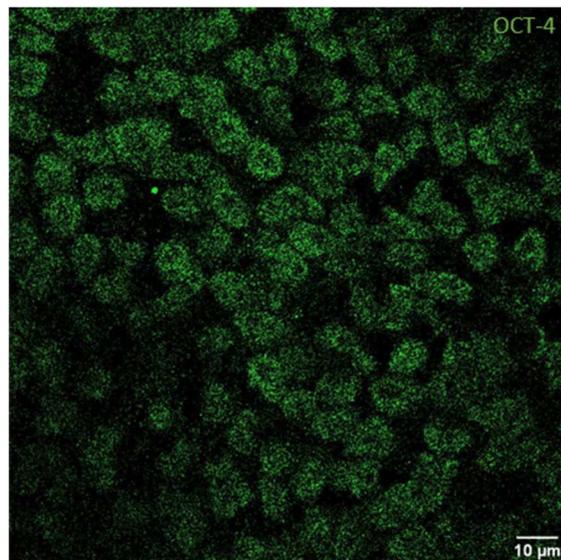
Anexo 6: Genotipado

Anexo 7: Resultado Test de micoplasma

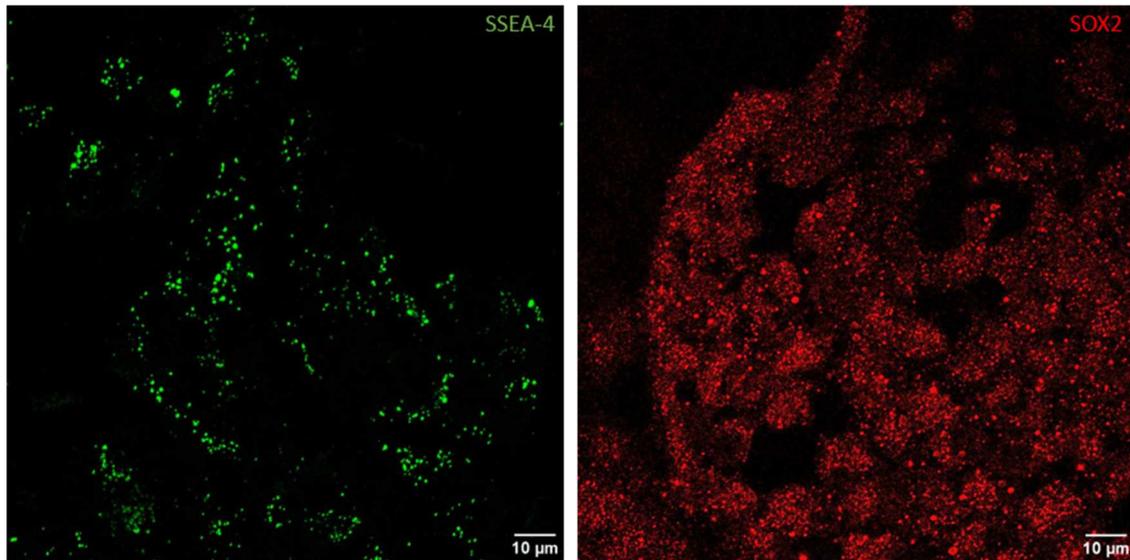
Anexo 1
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **NANOG** y **TRA1-81**

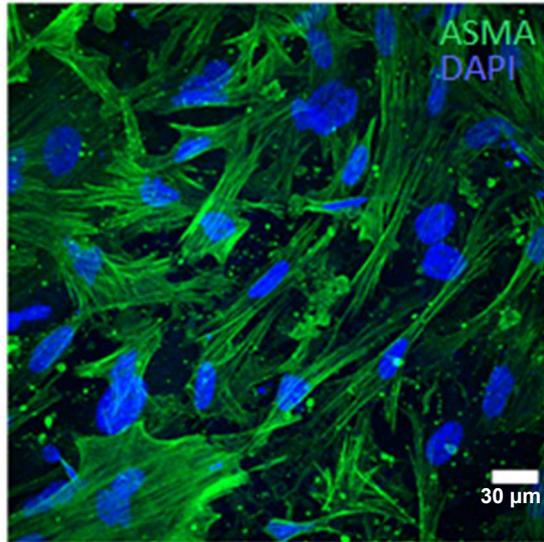


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **OCT-4**

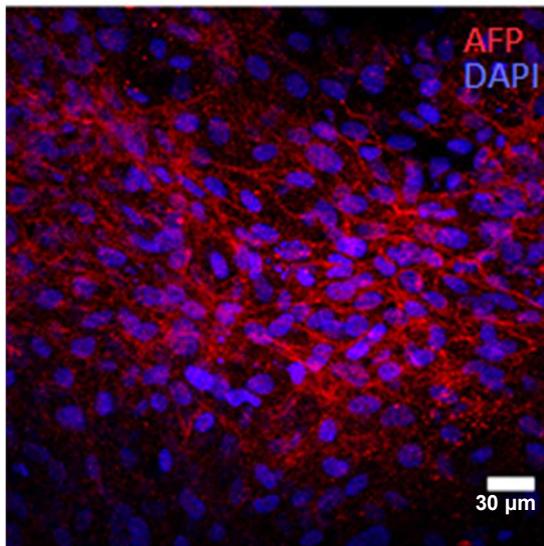


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **SOX2** y **SSEA-4**

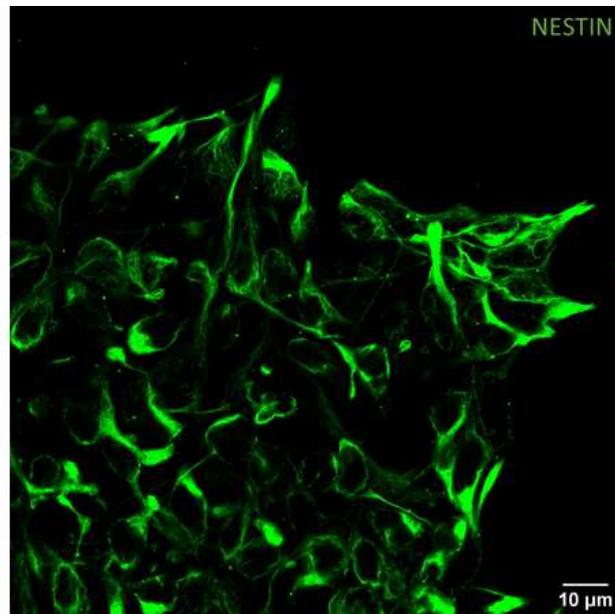
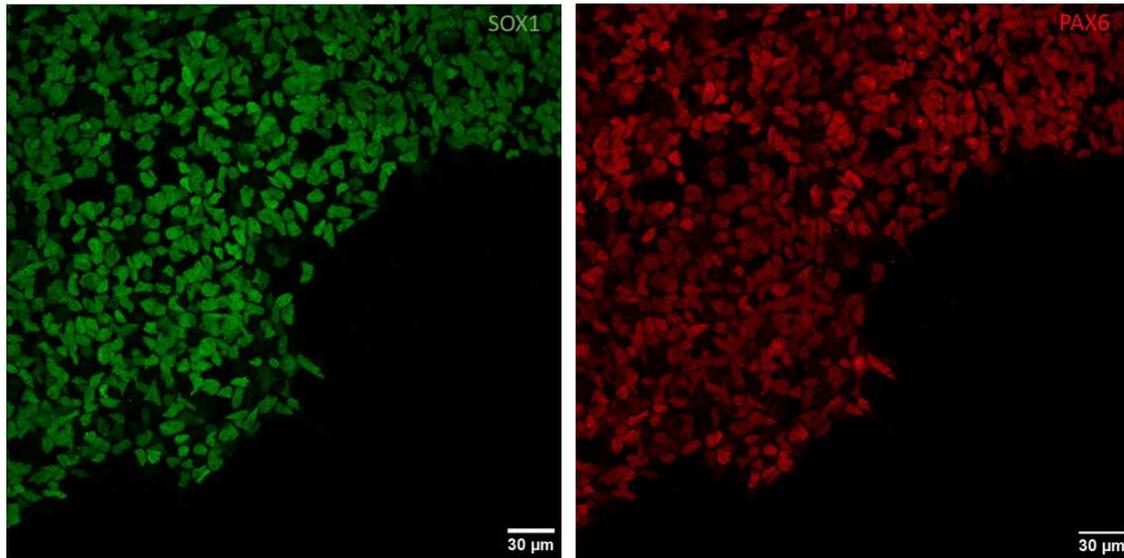
Anexo 2
Diferenciación *in vitro*



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para α -smooth muscle actin (**ASMA**)

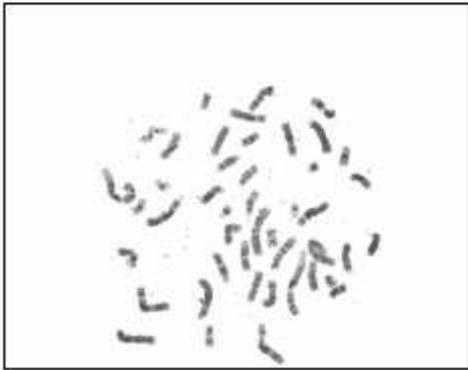
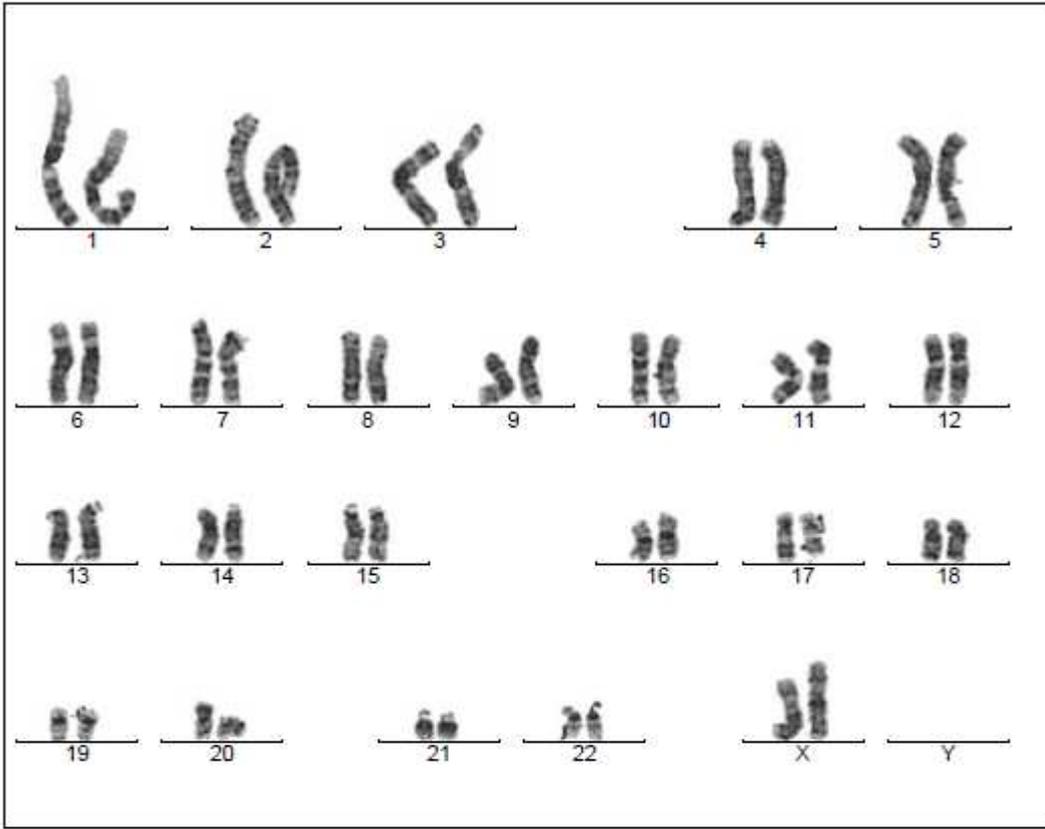


Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para α -fetoprotein (**AFP**)



Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **SOX1**, **PAX6** y **NESTIN**

Anexo 3
Cariotipo



Case name: A186820

Patient name: NW FIPS10II.3 R4F-H3 p8

Specimen type: stem cells

Result: 46,XX

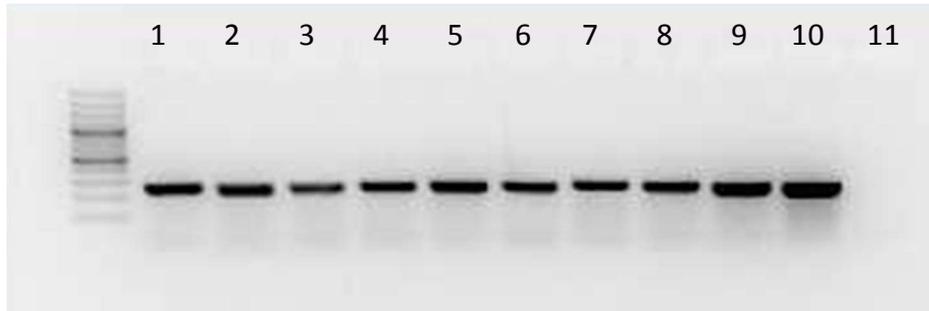
Anexo 4
Resultado microsátélites

Marcador	Rango (pares de bases)	Genotipo NW FiPSC 10.II.3-RAF-H3	Genotipo de referencia NW10.II.3
Amelogenin		Female	Female
D13S158	99-113	92/102	92/102
D20S171	123-149	134/134	134/134
D11S1313	184-204	184/196	184/196
D16S3030	190-202	186/198	186/198
D16S3024	208-248	222/222	222/222
D8S284	243-273	250/254	250/254
D6S452	263-280	270/270	270/270
D16S2621	71-91	78/78	78/78
D14S276	86-98	84/88	84/88

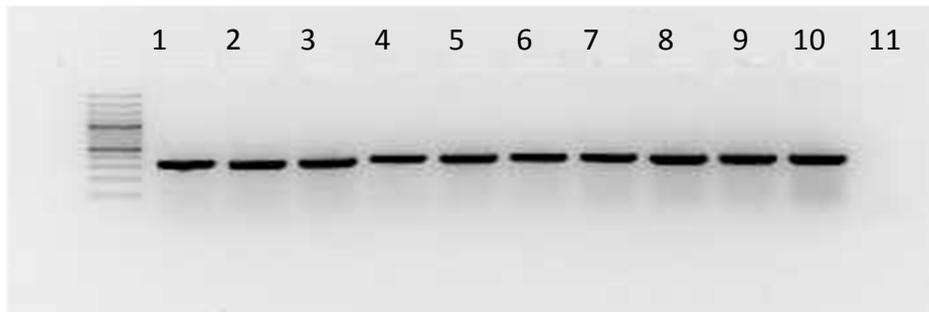
Anexo 5
**Integración y silenciamiento de los transgenes de
reprogramación**

PCR
INTEGRATION

pMX-OCT4_Flag-VP16-PTV-Sox2_HA-Orange

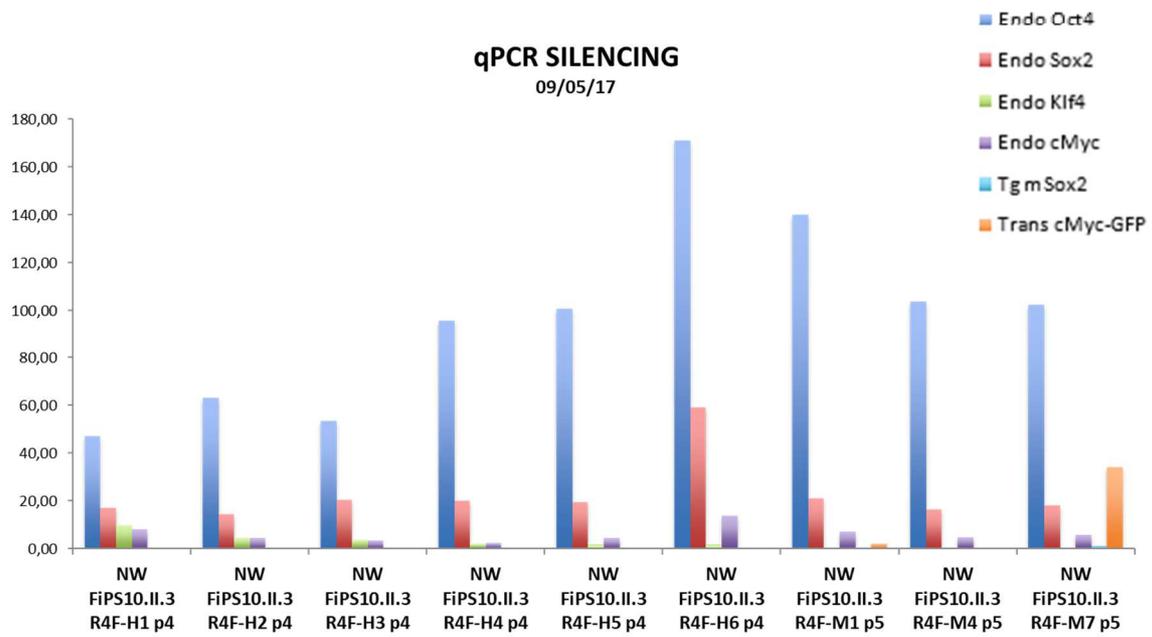


pMX-KLF4-cMYC-GFP



- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. NW FiPS10.II.3 R4F-H1, P4 | 7. NW FiPS10.II.3 R4F-M1, P4 |
| 2. NW FiPS10.II.3 R4F-H2, P4 | 8. NW FiPS10.II.3 R4F-M4, P4 |
| 3. NW FiPS10.II.3 R4F-H3, P4 | 9. NW FiPS10.II.3 R4F-M7, P4 |
| 4. NW FiPS10.II.3 R4F-H4, P4 | 10. Positive Control |
| 5. NW FiPS10.II.3 R4F-H5, P4 | 11. Negative Control (H₂O) |
| 6. NW FiPS10.II.3 R4F-H6, P4 | |

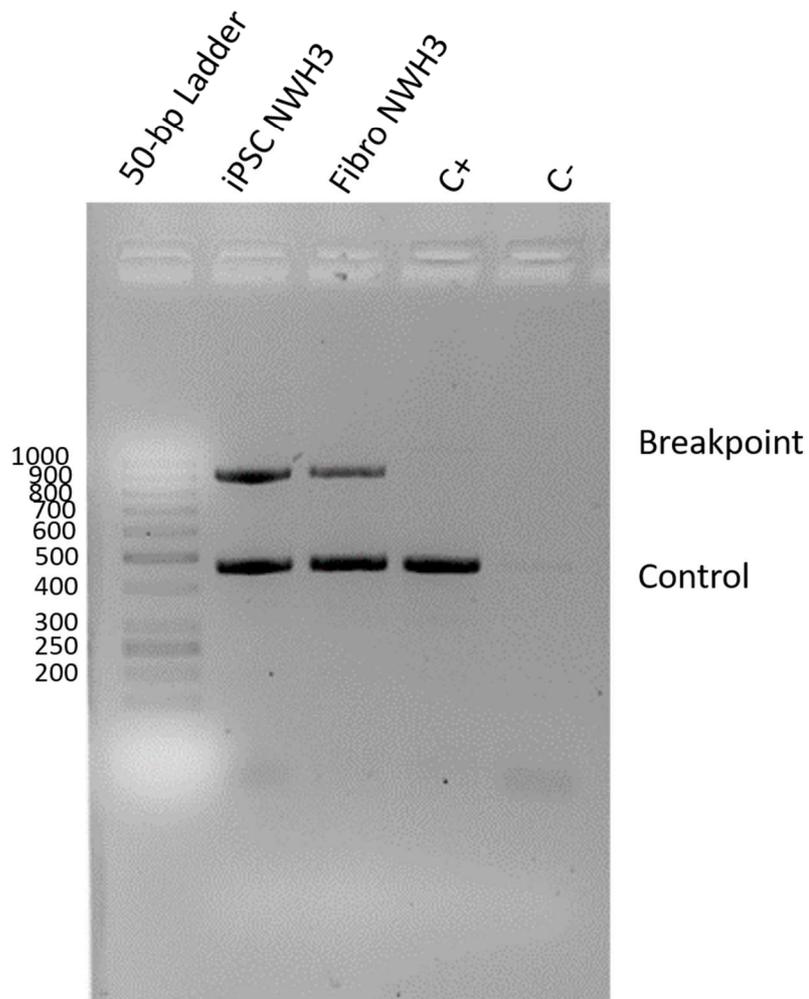
Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los genes utilizados para generar la línea



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

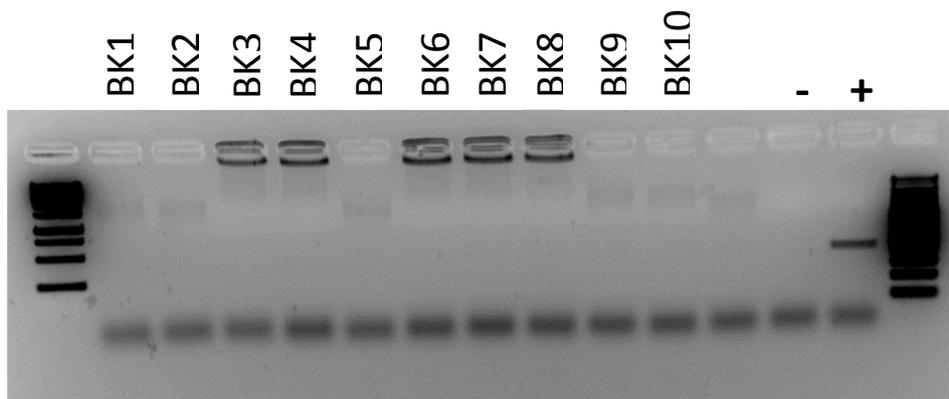
Anexo 6

Genotipado



PCR breakpoint. Se presenta la amplificación por PCR del punto de rotura en muestras de DNA de un individuo control, de fibroblastos del paciente con la delección de 817kb en 7q11.23 y de la línea del iPSC procedente de este individuo.

Anexo 7
Resultado Test de micoplasma



BK1: NW10.II.03F, p5, 07.07.17

BK3: NW FiPS10.II.03 R4F-H1, p10, 07.07.17

BK4: NW FiPS10.II.03 R4F-H3, p10, 07.07.17

BK8: NW FiPS10.II.03 R4F-H1, p14, 31.07.17

BK9: OCD1F, P0, 31.07.17

BK10: OCD2F, P0, 31.07.17