



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **Rb20235-C5** 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

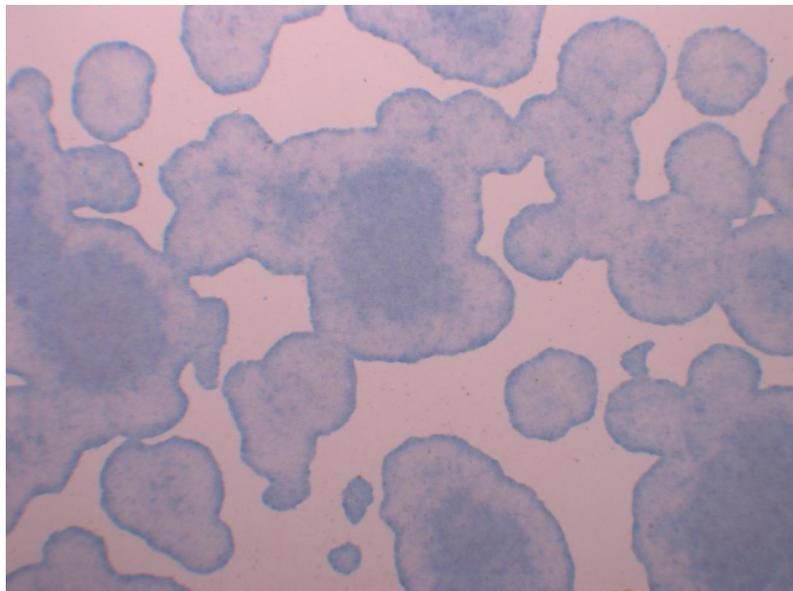
Anexo 6: Presencia de la mutación de las células originales

Anexo 7: Resultado test de micoplasma

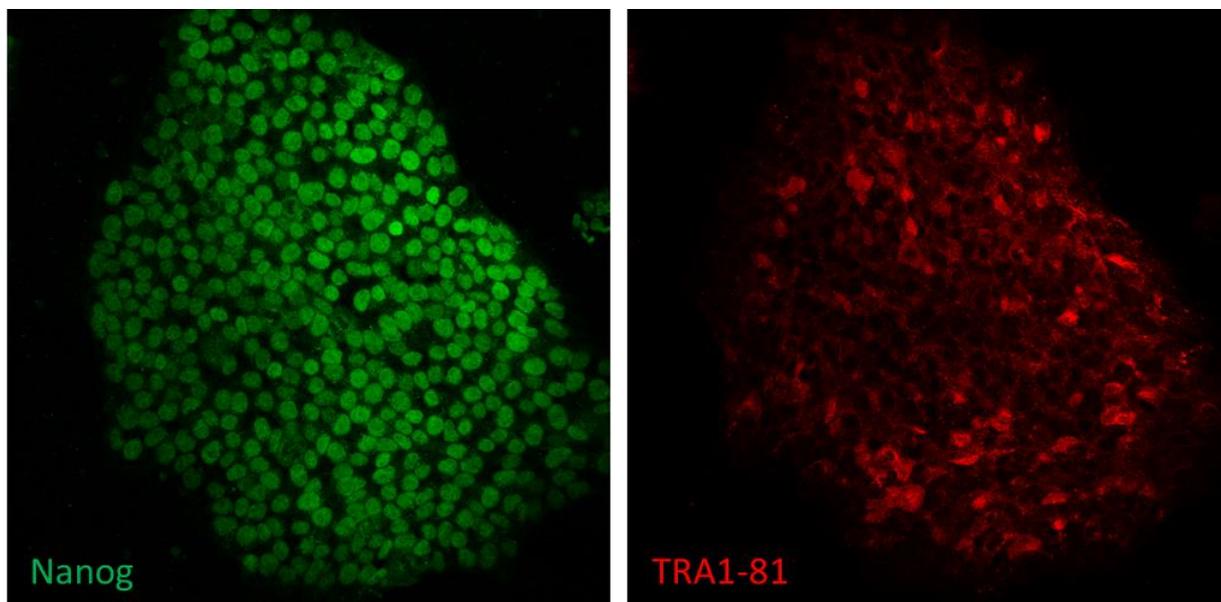


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

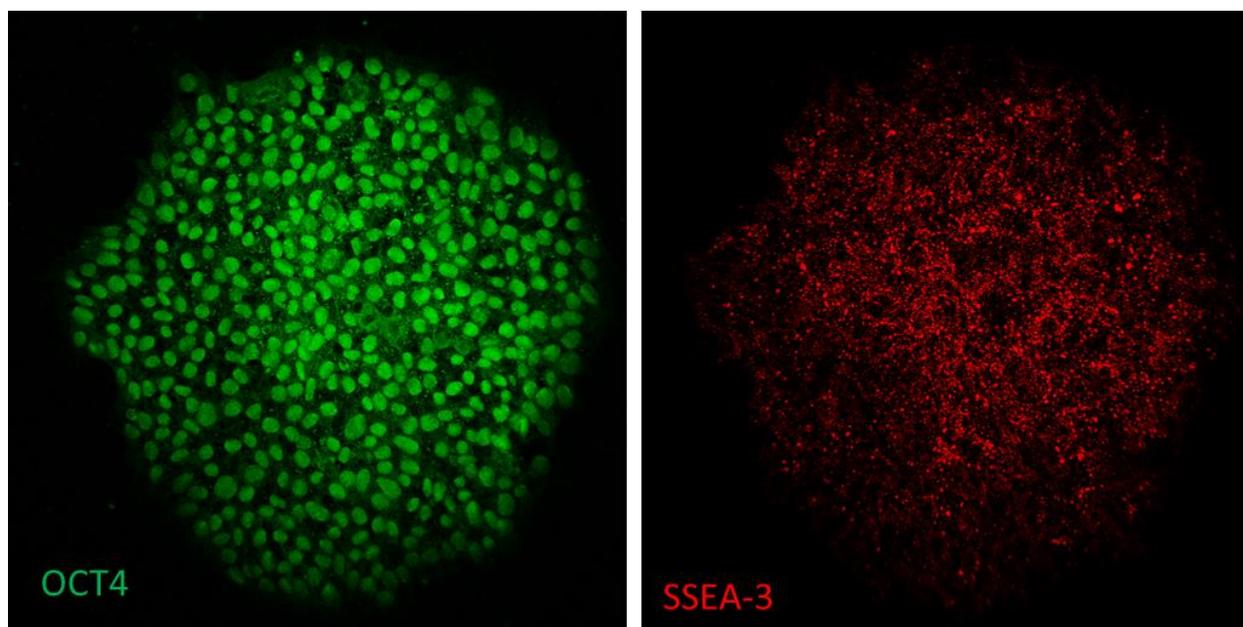


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



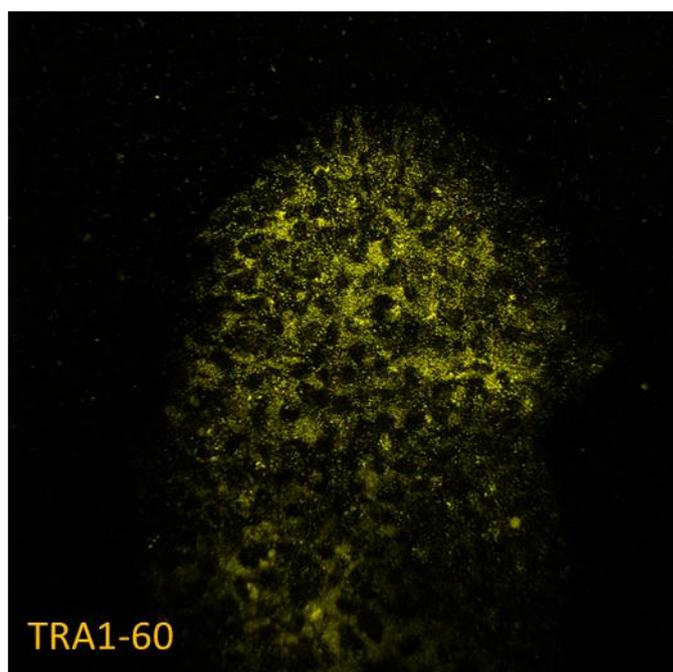
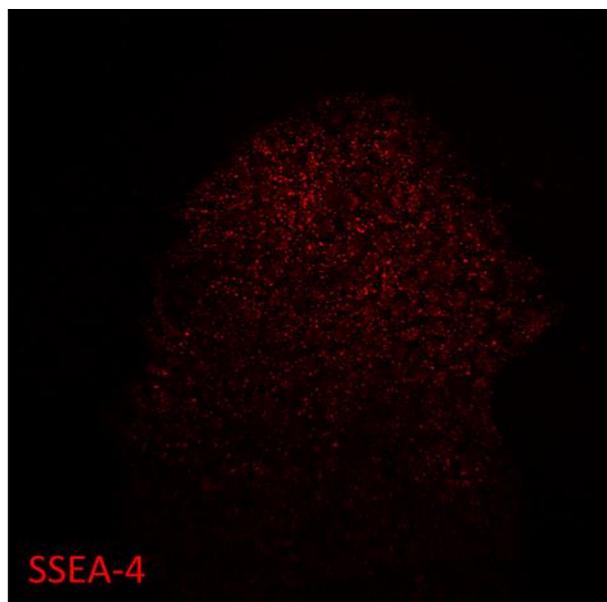
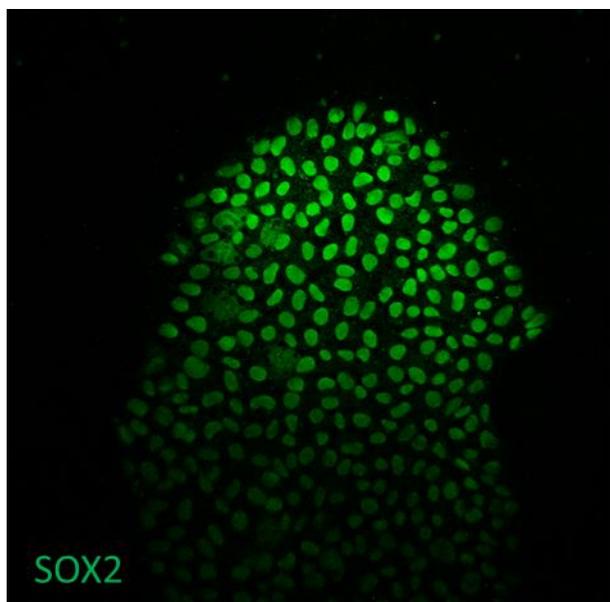
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3

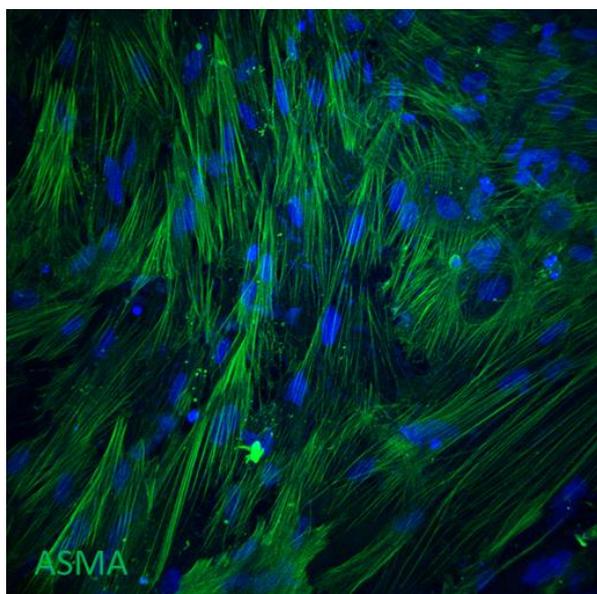


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

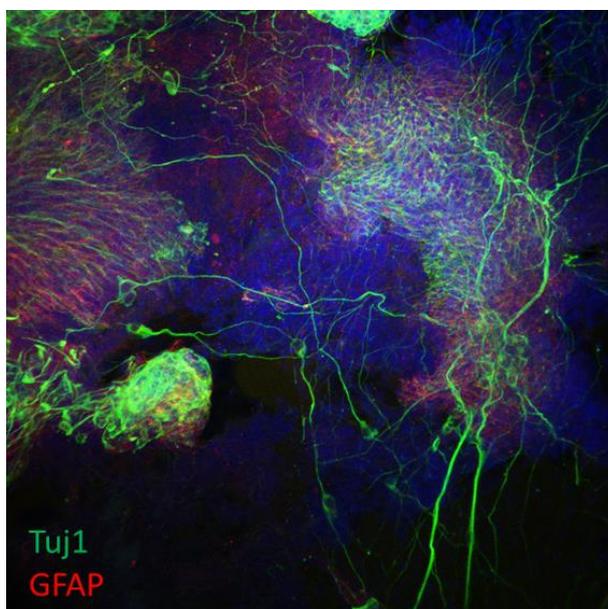


Anexo 2

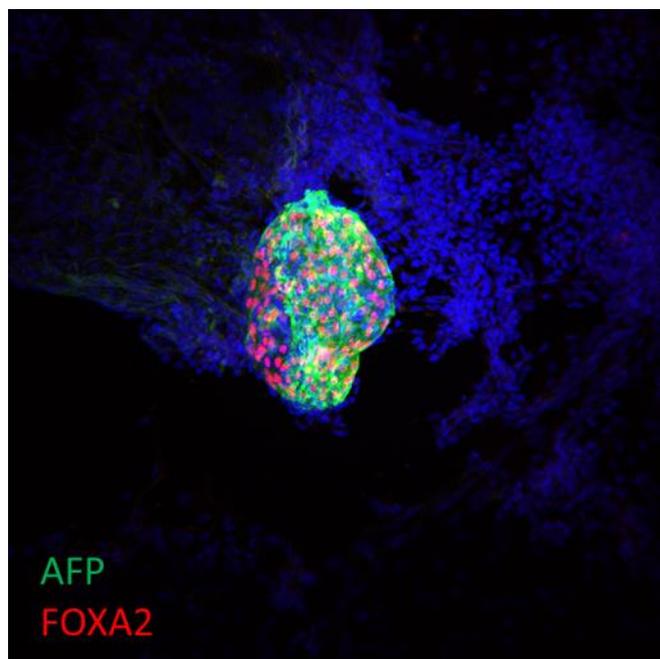
Diferenciación *in vitro*



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



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



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



Anexo 3

Cariotipo

ESTUDI CITOGENETIC

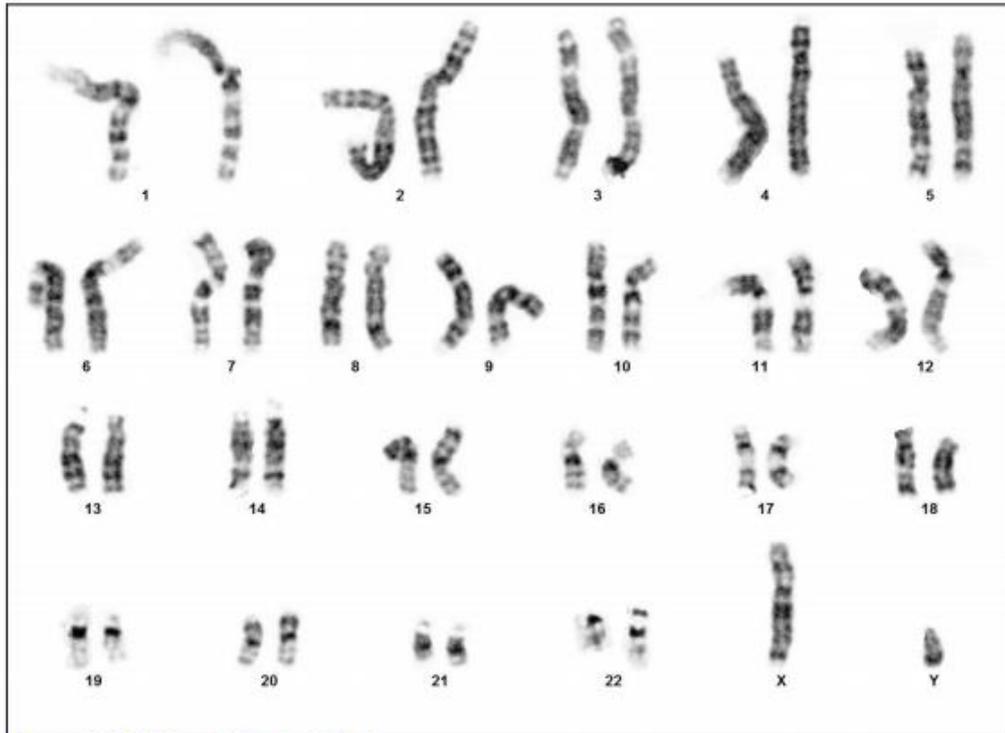
Case name: 00230750

NHC: CT0124

Nombre y Apellidos: Rb20235-C5 p13

Tipo de muestra: CM

Servicio: CMRB



Case: 00230750 Slide: 1 Cell: 3

Resultado: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsátélites

RESULTADOS:

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

Código biobanco	Código origen del ADN de la línea celular	Loci STRs analizados									
		TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
INVN02520A014ADNA002	Rb20235-C5 p13	6;9,3	27;32,2	10;11	9;12	8;9	13	10;11	XY	15;16	9;11

RESULTADOS:

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

Código biobanco	Código origen del ADN de la línea celular	Loci STRs analizados									
		TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
INVN02520A018ADNA002	Rb20235	6;9,3	27;32,2	10;11	9;12	8;9	13	10;11	XY	15;16	9;11

Granada, a 23 de Marzo de 2020

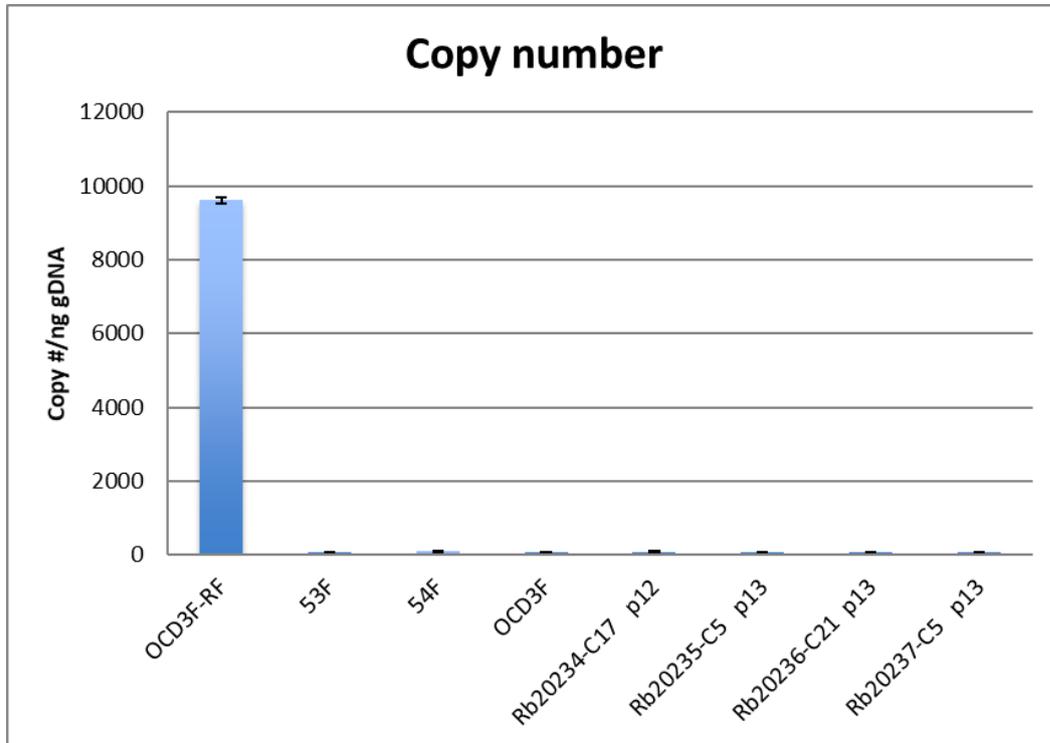
Laboratorio de Biología Molecular
Biobanco del SSPA

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

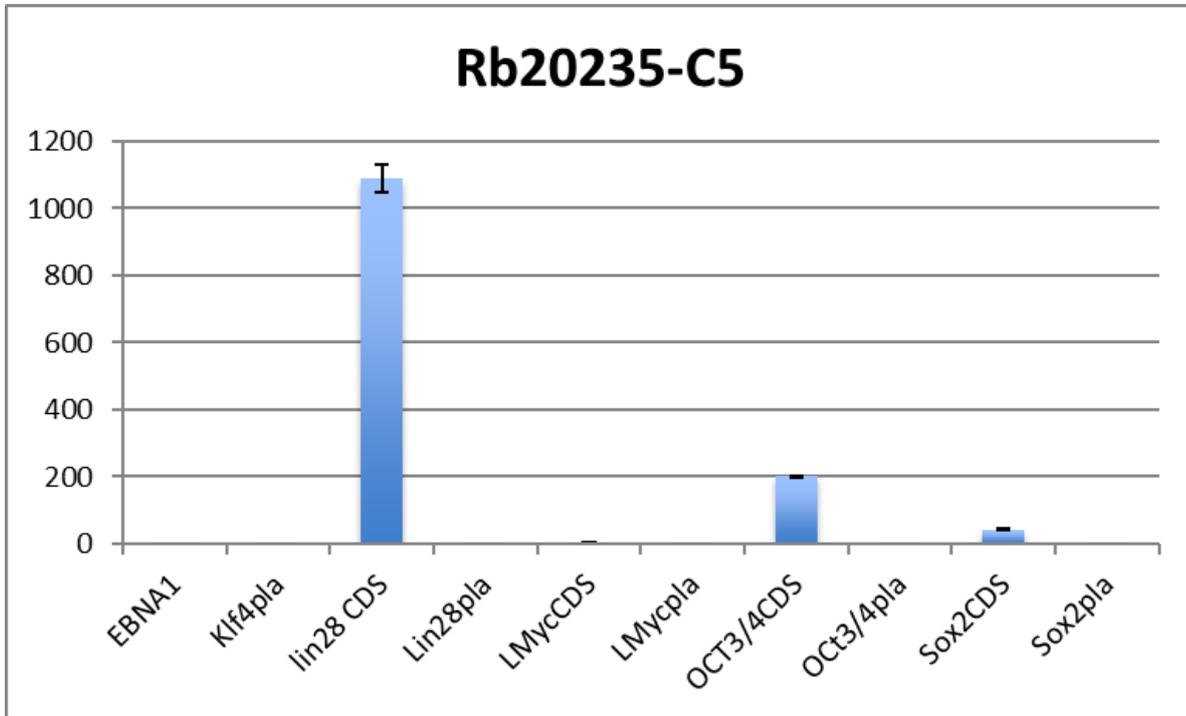


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en la línea **Rb20235-C5** 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 Rb20235-C5



Anexo 6

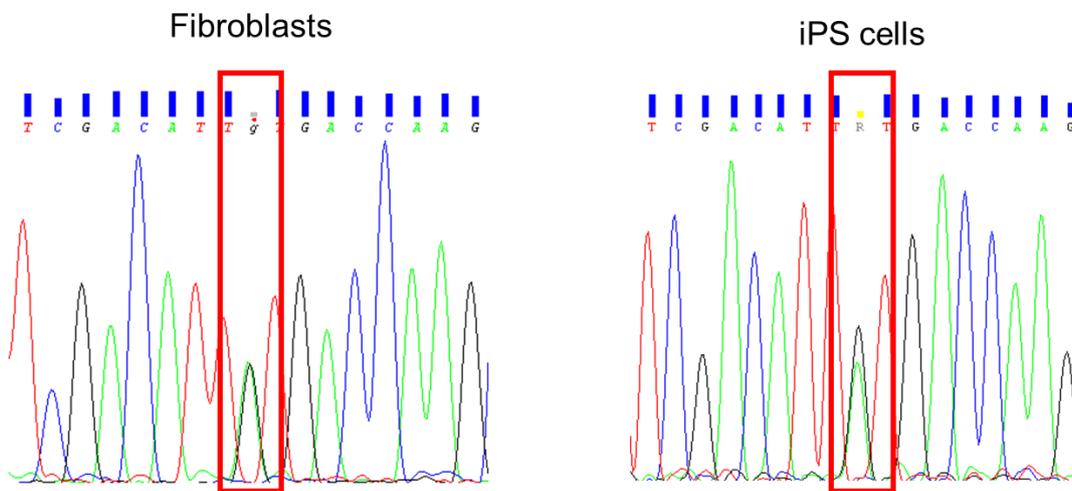
Presencia de la mutación de las células originales

SCN5A gene, exon 27 13 WT

TGAAGAAGCTGGGCTCCAAGAAGCCCCAGAAGCCCATCCCACGGCCCCTGAACAA
 GTACCAGGGCTTCATATTCGACATT**G**TGACCAAGCAGGCCTTTGACGTCACCATC
 ATGTTTCTGATCTGCTTGAATATGGTGACCATGATGGTGGAGACAGATGACCAAA

SCN5A gene, exon 27 Patient BrS Rb20235-C5 (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

