

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [ctrl.PD]FiPS005-4F-9 EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

Anexo 4: Estudio microsatélites

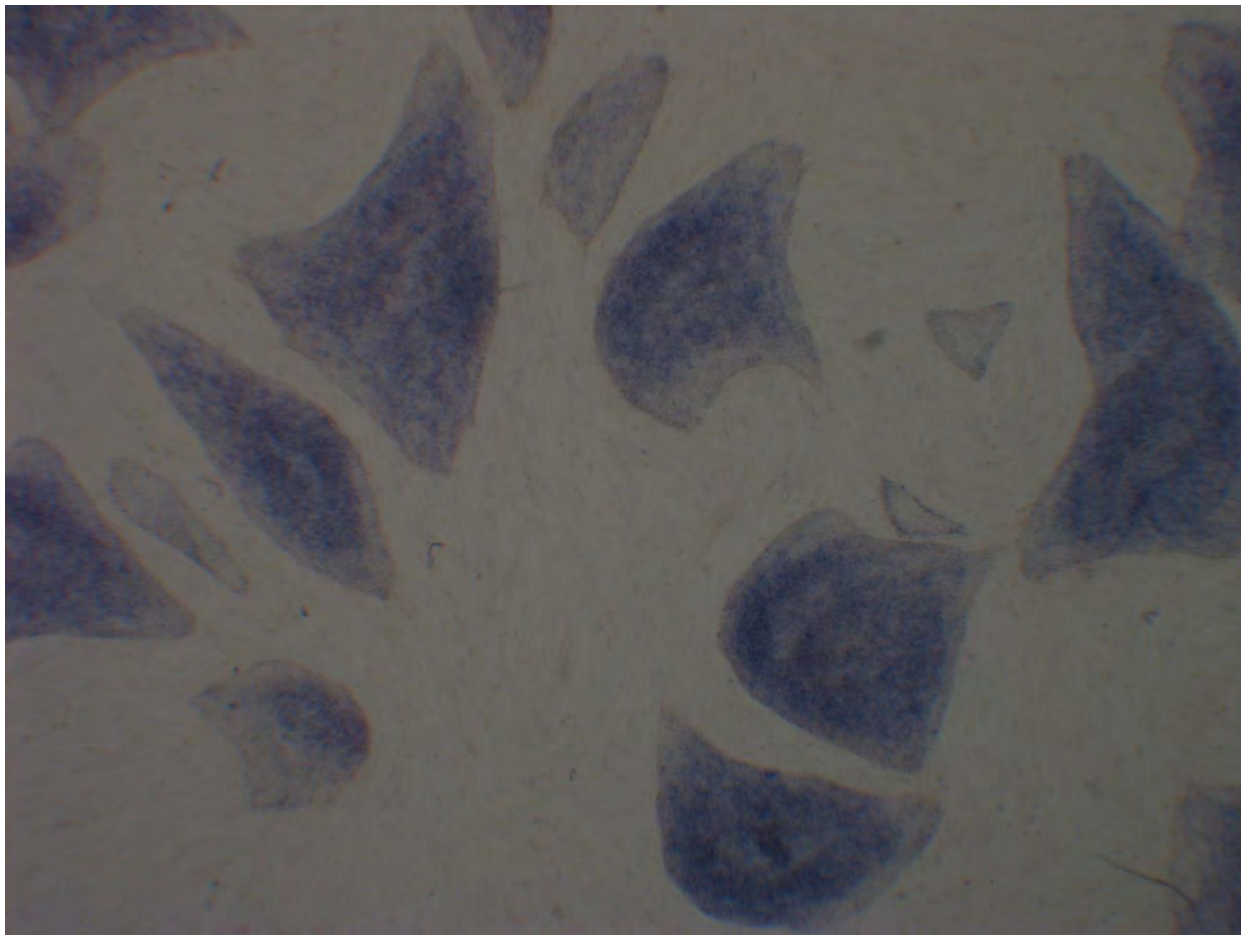
Anexo 5: Test de integración y de silenciamiento

Anexo 6: Genotipación de la línea

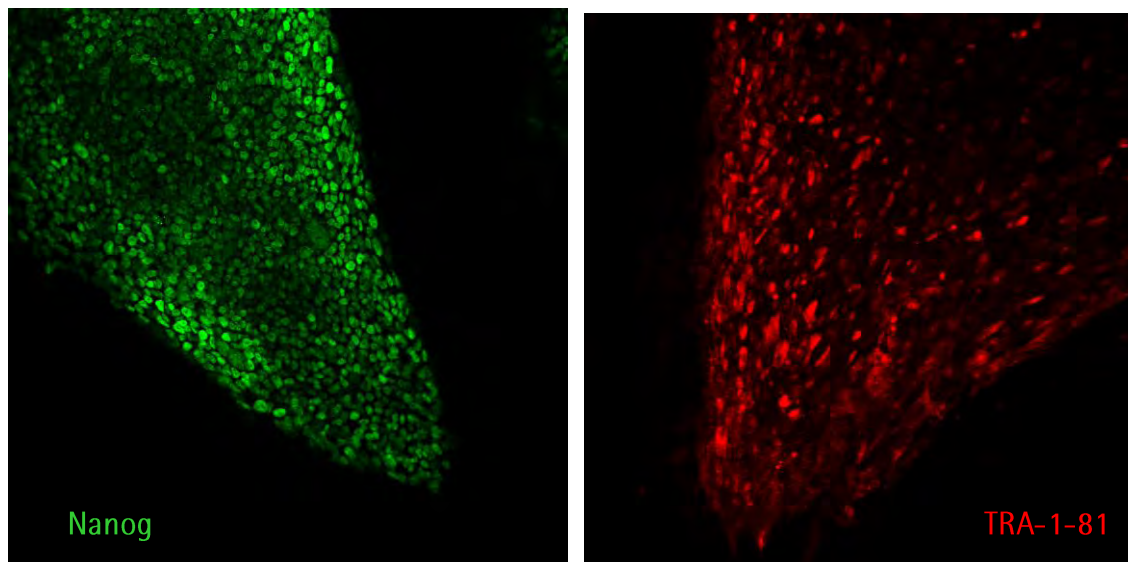
Anexo 7: Test de micoplasma

Anexo 1

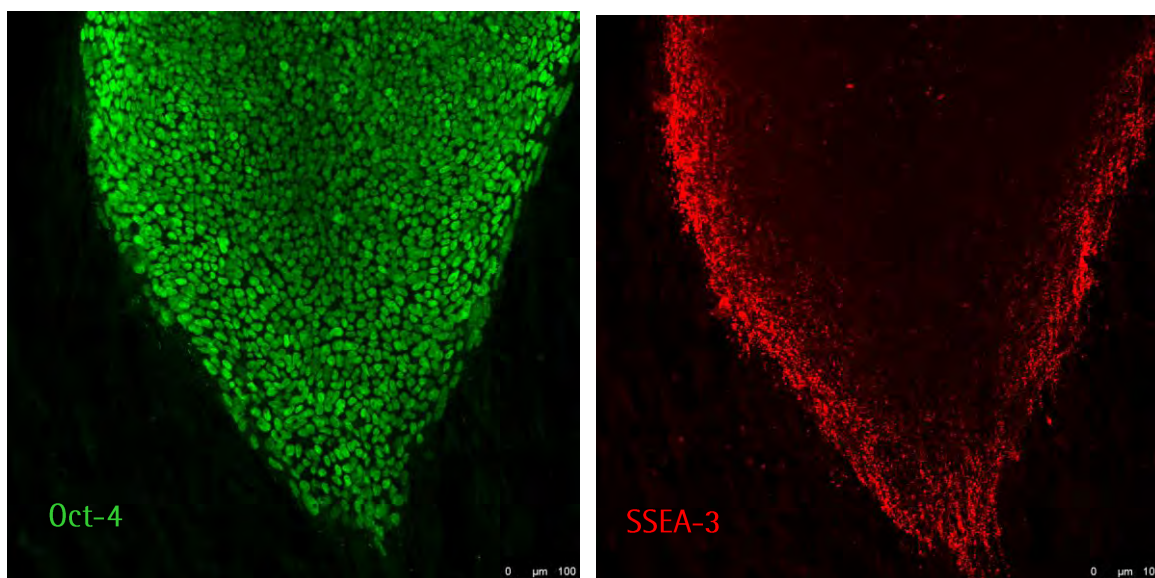
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia



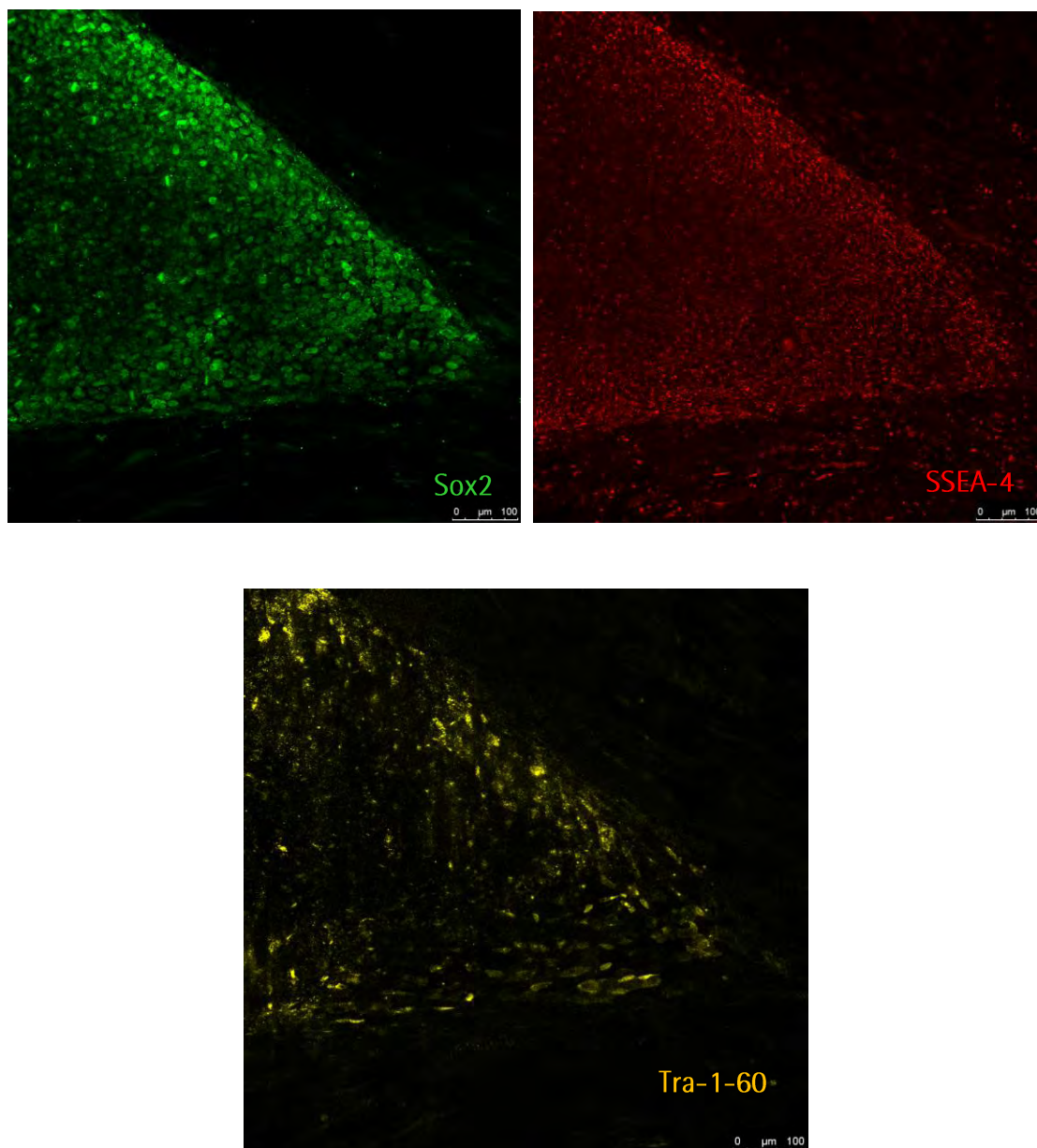
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células madre pluripotentes



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



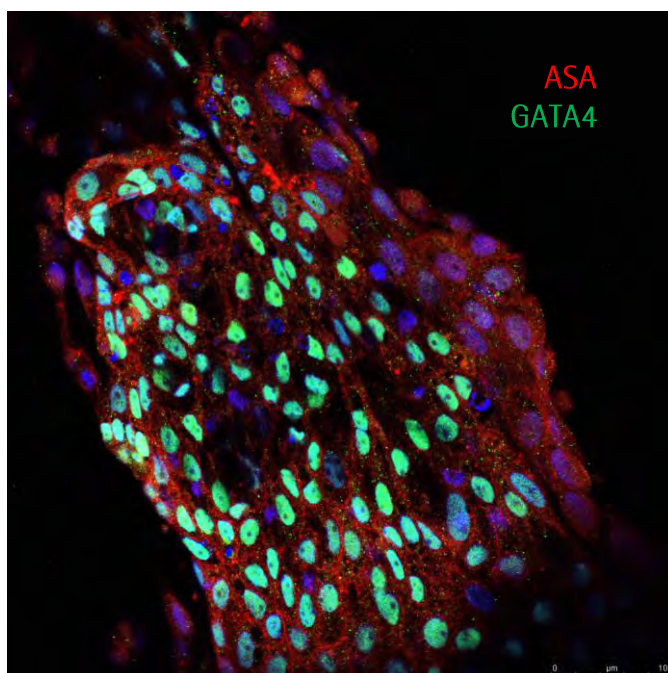
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **Oct-4 y SSEA-3**



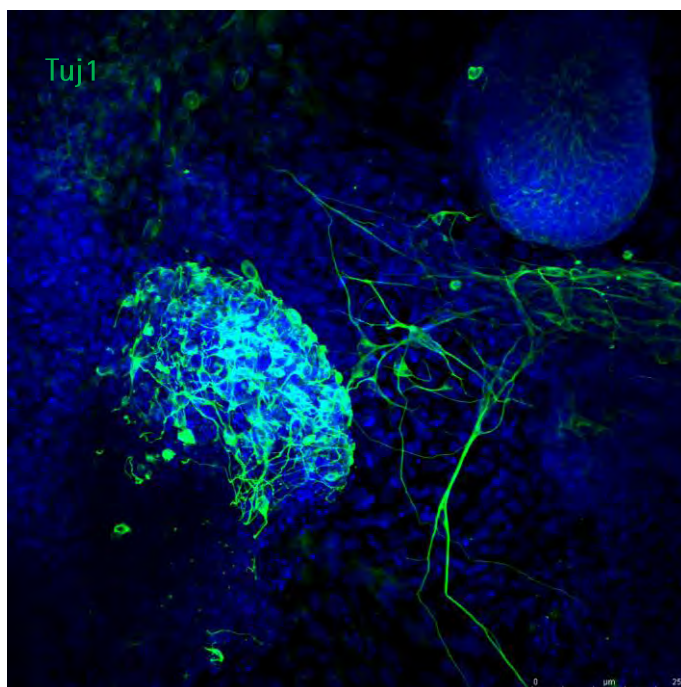
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 2

Diferenciación *in vitro*



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASA** y **GATA4**



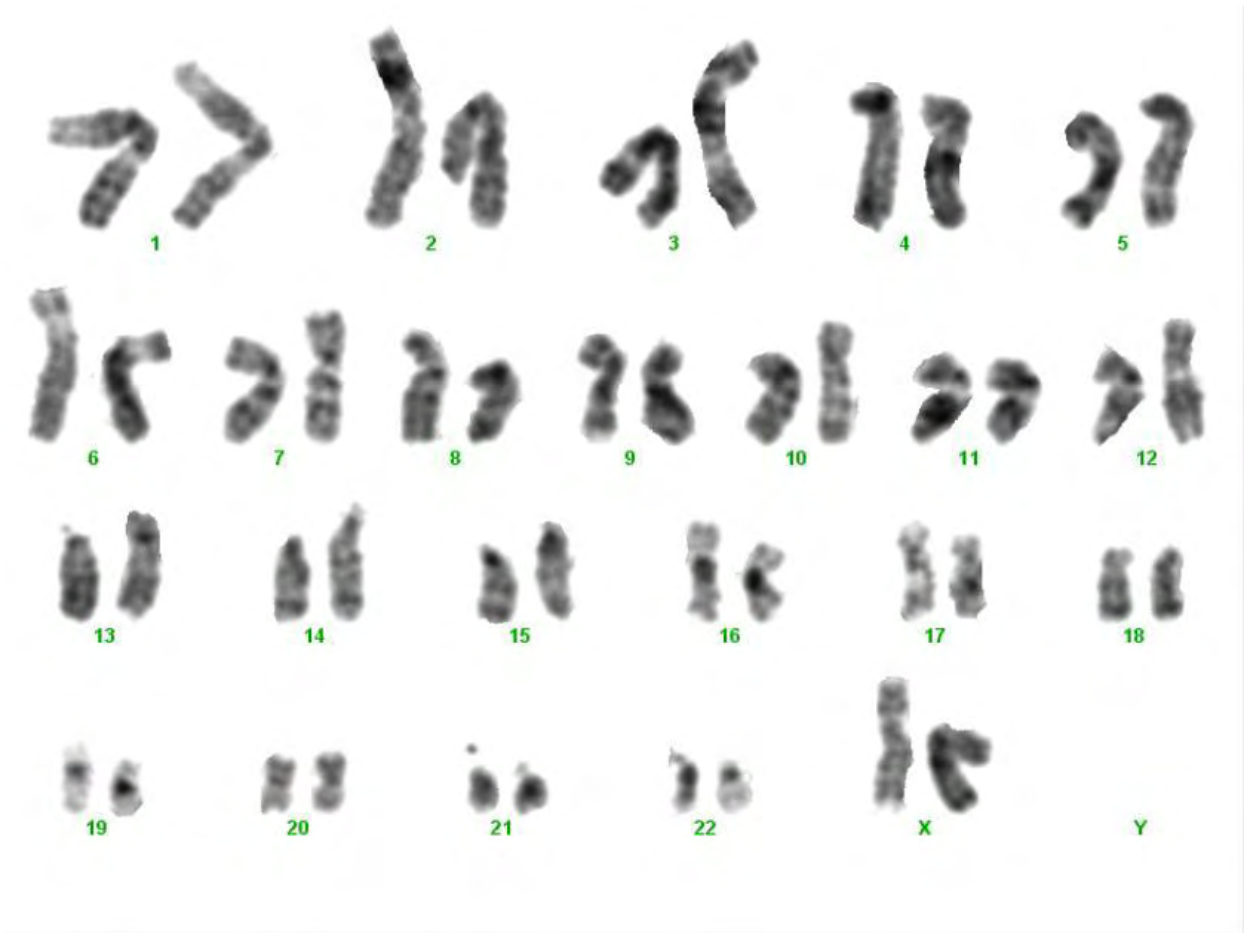
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1**



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

Anexo 3

Cariotipo



Anexo 4

Estudio microsatélites

Análisis de microsatélites en la línea de células madre pluripotentes [ctrl.PD]FiPS005-4F-9 y en la línea de fibroblastos de la cual proceden.



qCell Identity Test

Web: <http://www.qgenomics.com>
Email: info@qgenomics.com
Tel: 93.316.08.08

Servicio de autenticación de líneas celulares

Detalles de la solicitud

Solicitante: Cristina Gómez Santos
Centro: Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Departamento:

Detalles de la muestra

Identificador externo: PD005 CTROL FiPS-4F-9
Identificador interno: qG15013239
Descripción: 1 tubo de 15mL con pellet celular
Nota: ID petición PD005 CTROL FiPS-4F-9, pero en el tubo indica CTRL PDFiPS 4F-9

Informe de resultados

Resultados

Calidad de la muestra: Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
PD005 CTROL FiPS-4F-9	6-8	31.2-33.2	13-13	12-13	10-14	9-13	10-12	XX	16-18	8-8

Coincidencia con línea celular conocida: No Cual:

Contaminación con otra línea celular humana: No detectable

Observaciones: El patrón de marcadores STR coincide en un 100 % con la línea celular Parkinson PAL125 005 p7 (qG15013232)

Firmado:
Manel García

Fecha: 02/06/2015

Breve descripción del método

El estudio se ha realizado mediante el genotipado de marcadores STR (también conocidos como microsatélites: TH01, D21S11, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, vWA y TPOX). La combinación de los nueve marcadores utilizados produce un perfil de alelos con una probabilidad de coincidencia por azar de 1 en $2,9 \times 10^9$. Se usa además un marcador para identificar el sexo de la muestra (AMEL).

Servicio de autenticación de líneas celulares

Detalles de la solicitud

Solicitante: Cristina Gómez Santos
Centro: Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Departamento:

Detalles de la muestra

Identificador externo: Parkinson PAL125 005 p7
Identificador interno: qG15013232
Descripción: 1 tubo de 1.5mL con pellet celular
Nota: ID petición Parkinson PAL125 005 p7, pero en el tubo indica Fibro PD005

Informe de resultados

Resultados

Calidad de la muestra: Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
Parkinson PAL125 005 p7	6-8	31.2-33.2	13-13	12-13	10-14	9-13	10-12	XX	16-18	8-8

Coincidencia con línea celular conocida: No **Cual:**

Contaminación con otra línea celular humana: No detectable

Observaciones: El patrón de marcadores STR coincide en un 100 % con la línea celular PD005 CTROL FIPS-4F-9 (qG15013239)

Firmado:
Manel Garcia

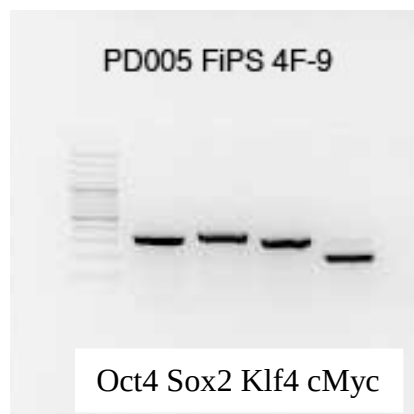
Fecha: 02/06/2015

Breve descripción del método

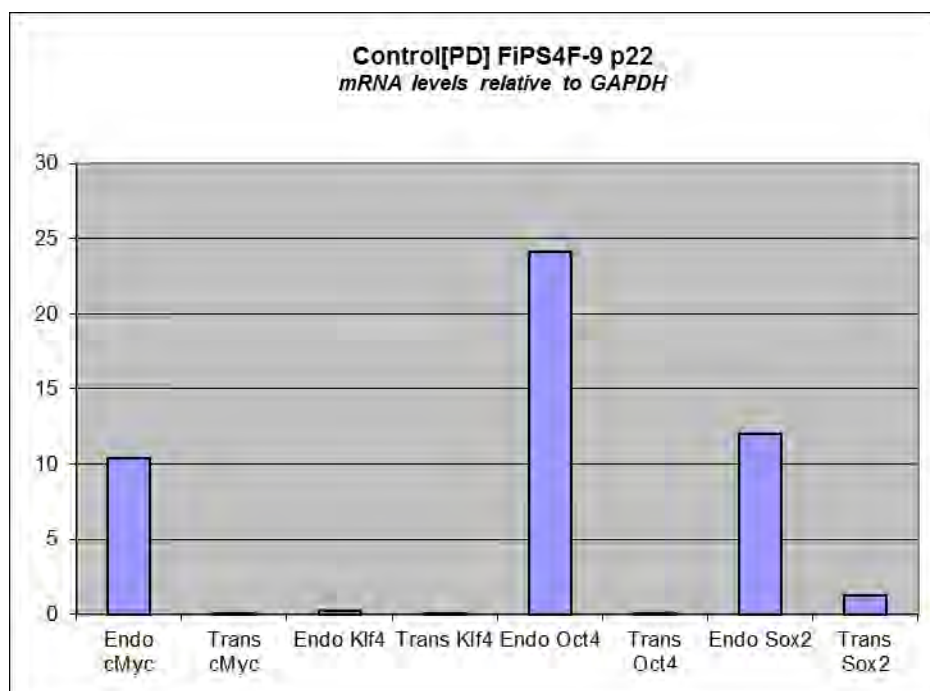
El estudio se ha realizado mediante el genotipado de marcadores STR (también conocidos como microsatélites: *TH01*, *D21S11*, *D5S828*, *D13S317*, *D7S820*, *D16S539*, *CSF1PO*, *vWA* y *TPOX*). La combinación de los nueve marcadores utilizados produce un perfil de alelos con una probabilidad de coincidencia por azar de 1 en $2,9 \times 10^9$. Se usa además un marcador para identificar el sexo de la muestra (*AMEL*).

Anexo 5

Estudio integración y de silenciamiento



Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los 4 genes utilizados Oct-4, Sox-2, Klf4 y c-myc) para generar la línea [ctrl.PD]FiPS005-4F-9



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

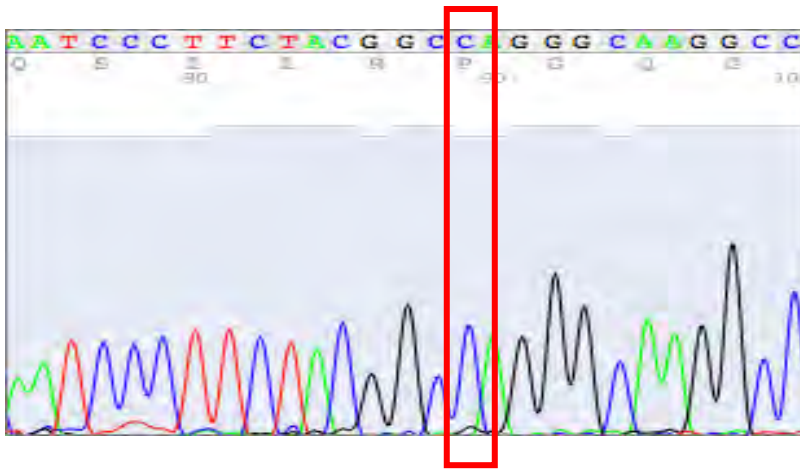
Genotipación de la línea

SAMPLE:

[ctrl.PD]005 FiPS-4F-9

Sequencing result:

GTTCTTGCAAATTGGCTCGCAGGCTGATGCCTGGGCAGTGGGAGCCATCGCCTATG
AAATCTTCGGGCTTGTCAATCCCTTCTACGGC**C**AGGGCAAGGCCACCTTGAAAGC
CGCAGCTACCAAGAGGCTCAGCTACCTGCACTGCCCAGTCAGTGCCTCCAGACGT
GAGACAGTTGGTGAGGGCACTGCTCCAGCGAGAGGCCAGCAAGA



Result:

iPS PD_005 does not present any point mutation nor deletion on exon 7

Anexo 7

Test de micoplasma

MYCOPLASMA TEST

1 2 3



1. Ctl [PD] FiPS005-4F-9
2. CT -
3. CT +