

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR CBiPS-4F-3a EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Diferenciación *in vivo*

Anexo 4: Cariotipo

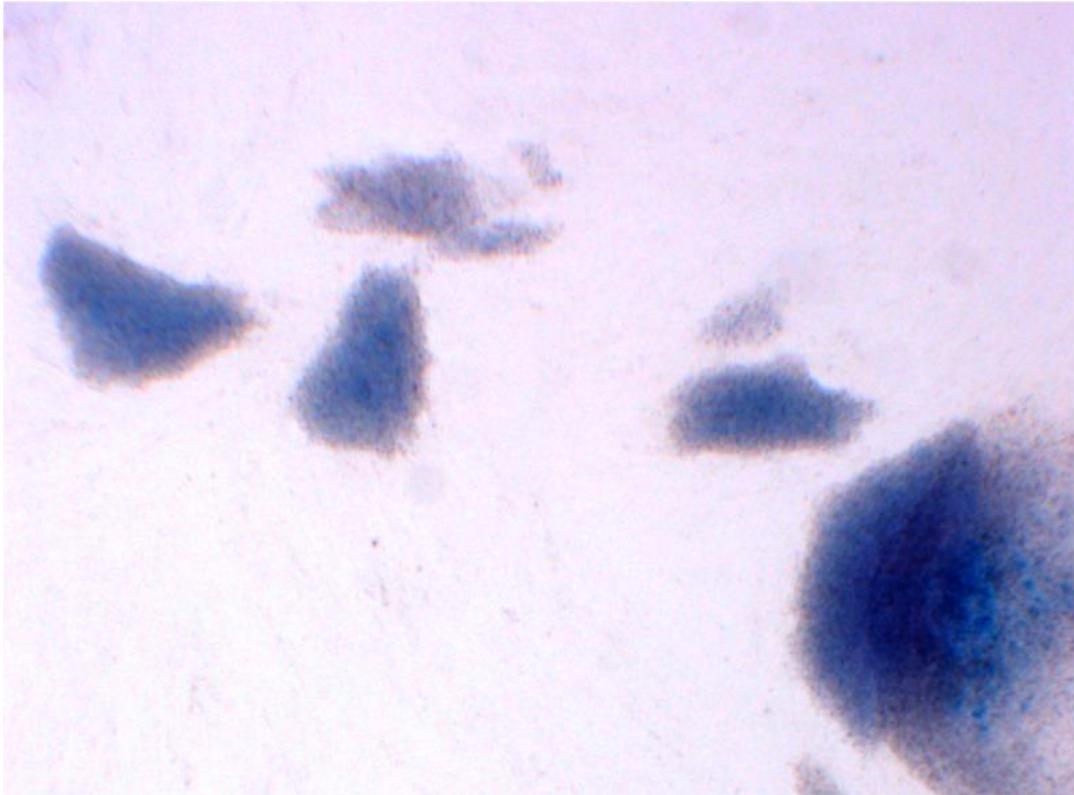
Anexo 5: Resultados microsatélites

Anexo 6: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

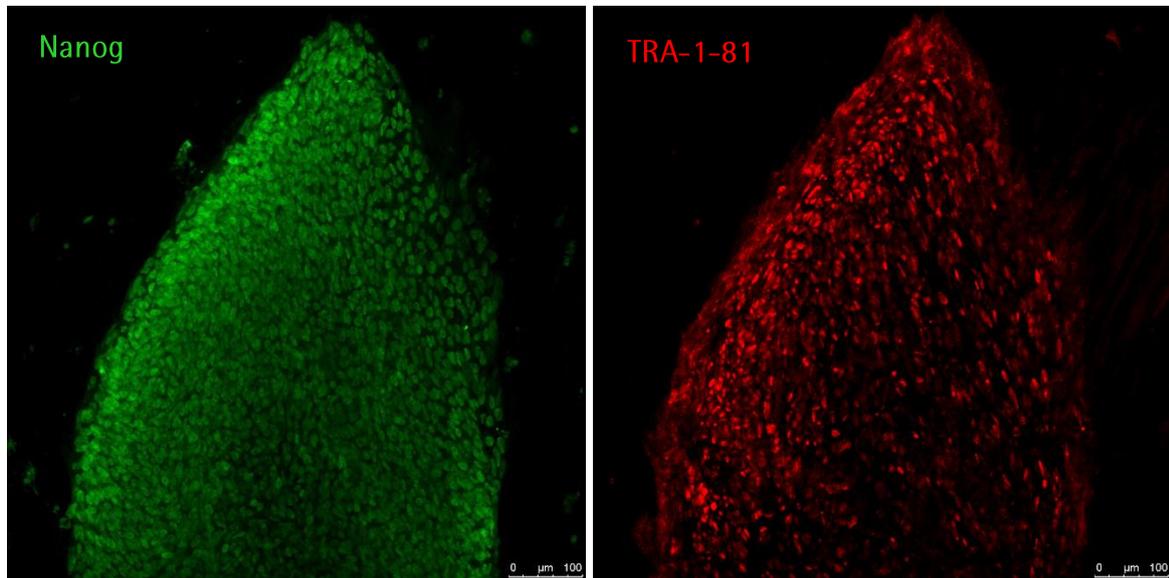
Anexo 7: Resultado Test de micoplasma (PCR)

Anexo 1

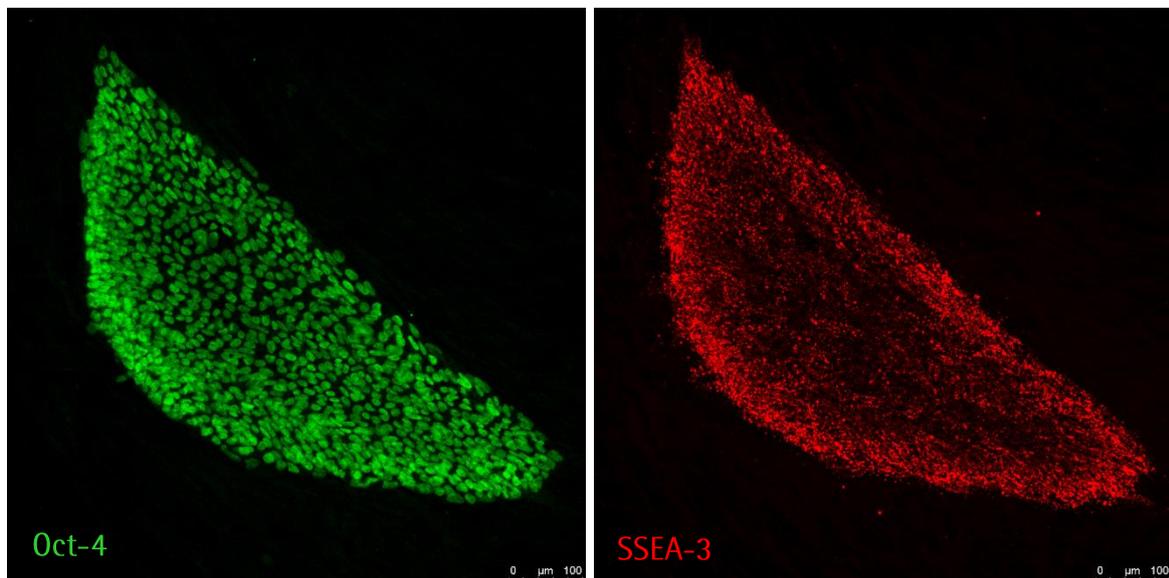
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia



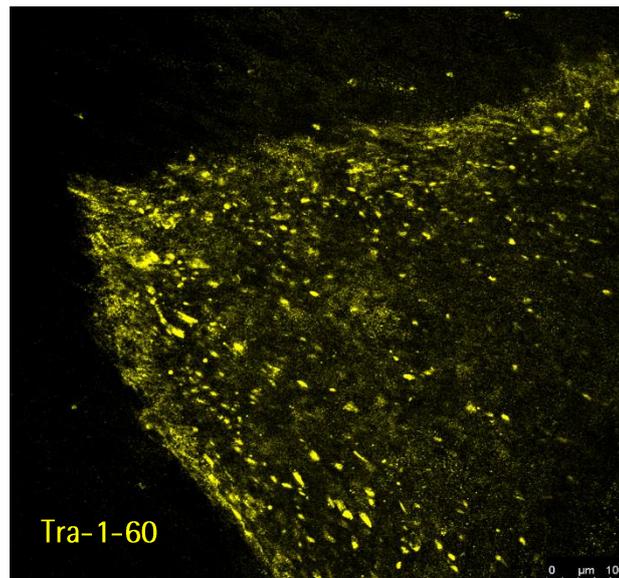
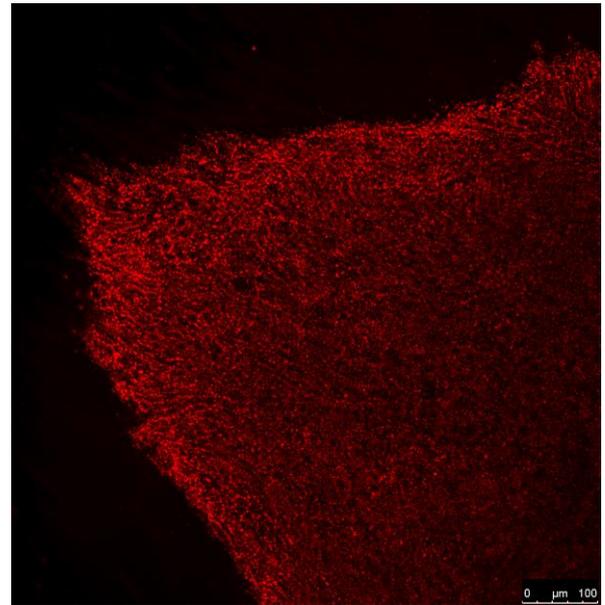
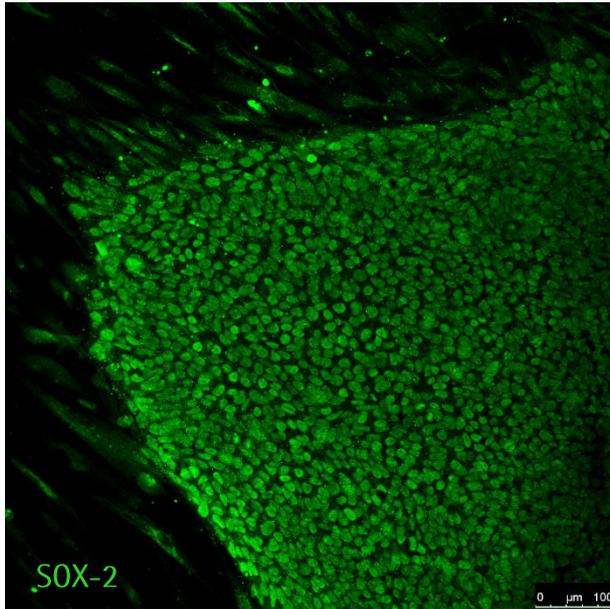
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia
Nanog y TRA-1-81



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

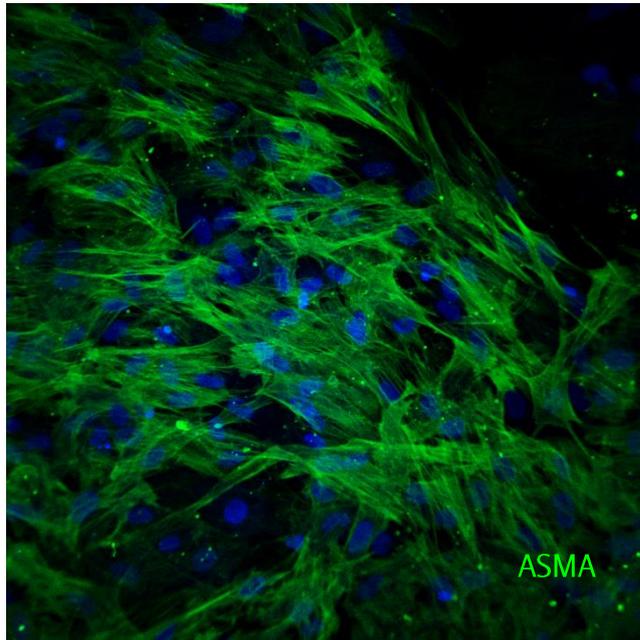


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

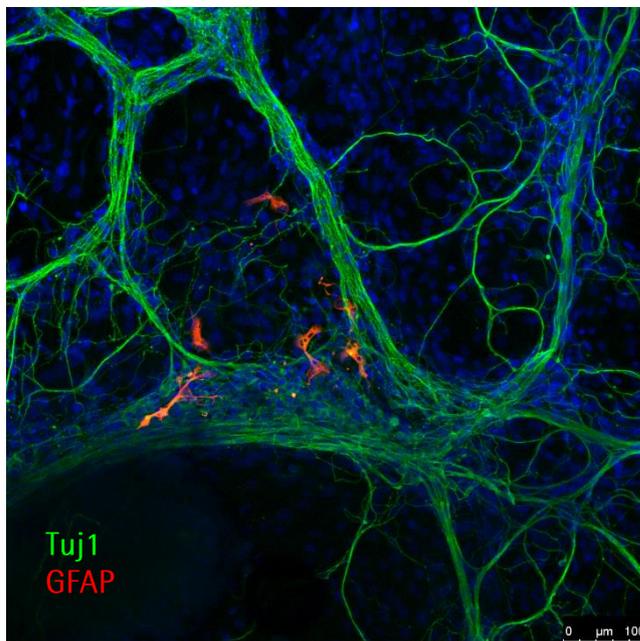
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 2

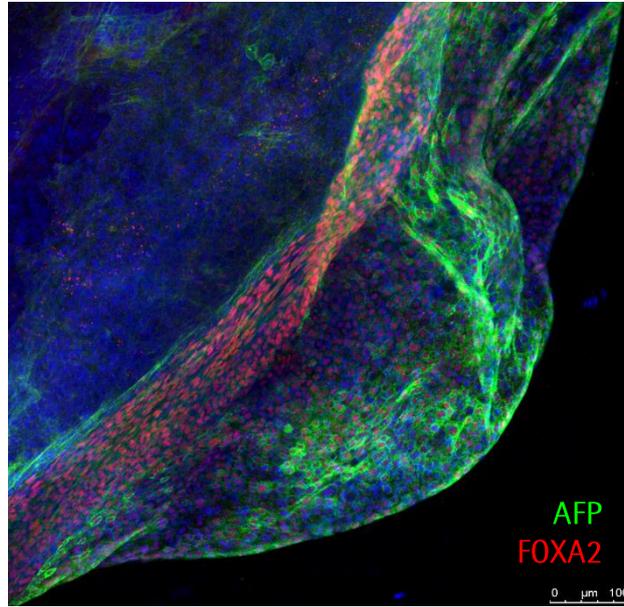
Diferenciación *in vitro*



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



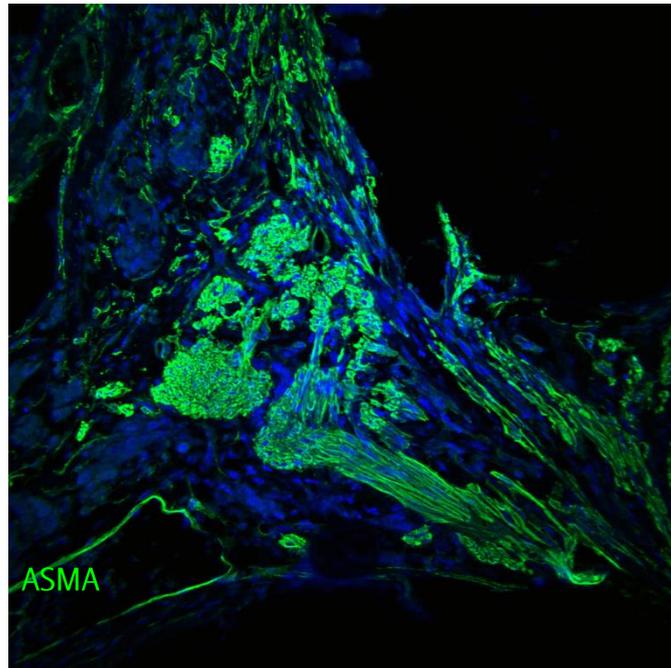
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **TuJ1 y GFAP**



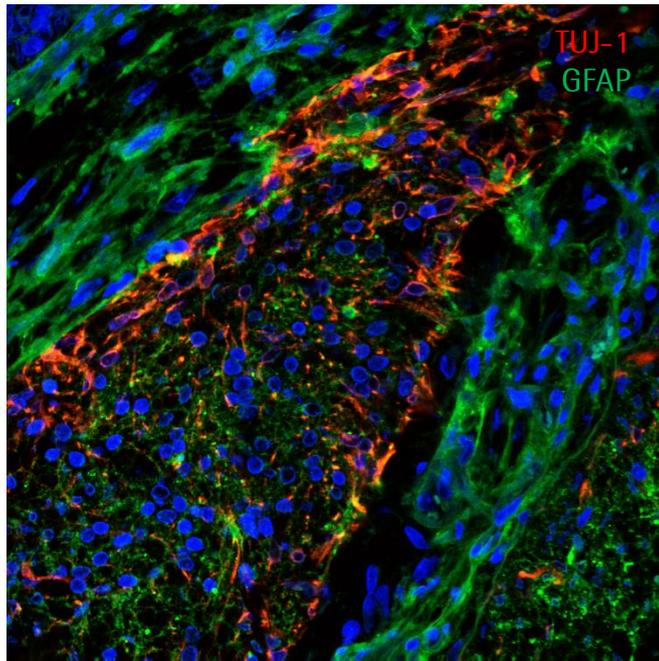
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP y FOXA2**

Anexo 3

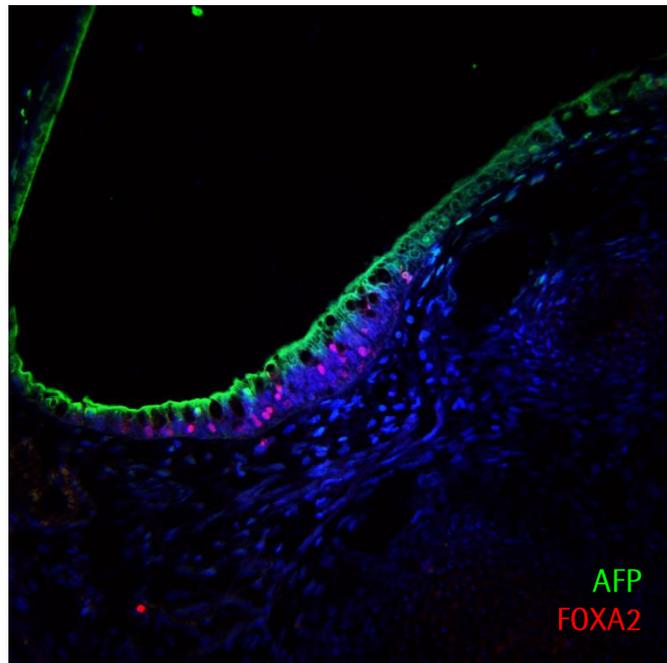
Diferenciación *in vivo*



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



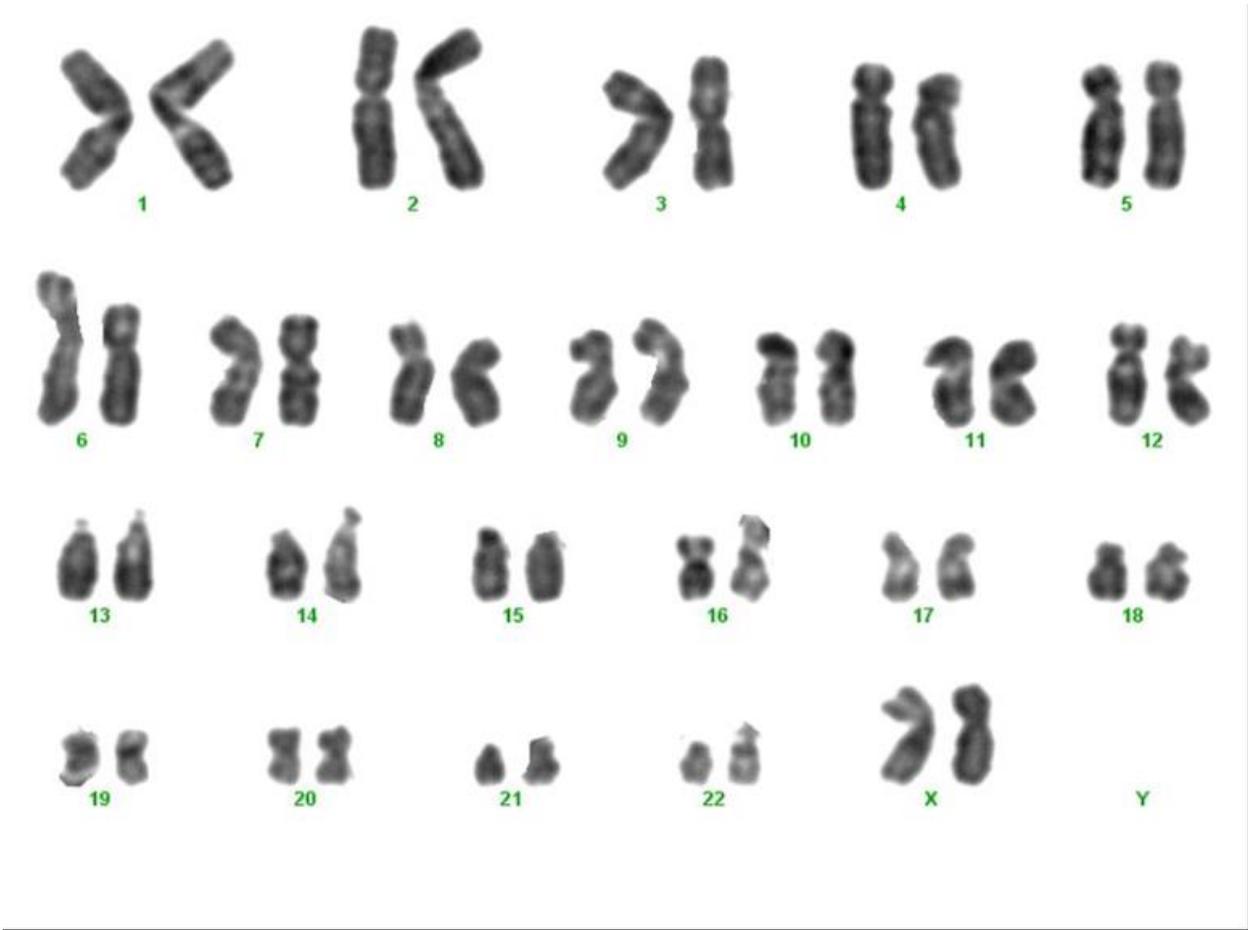
Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **TUJ1** y **GFAP**.



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

Anexo 4

Cariotipo



Anexo 5

Resultado análisis microsatélites

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: CBiPS 4F-3a
Identificador interno: qG15013242
Descripción: 1 tubo de 15mL con pellet celular.
Nota: ID petición CBiPS 4F-3a, pero en el tubo indica CBiPS 4F-3

Informe de resultados

Resultados

Calidad de la muestra: Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
CBiPS 4F-3a	7-9.3	28-32.2	11-12	8-12	11-12	12-13	10-11	XX	15-16	8-8

Coincidencia con línea celular conocida: No **Cual:**
Contaminación con otra línea celular humana: No detectable
Observaciones:

Firmado:
Manel Garcia

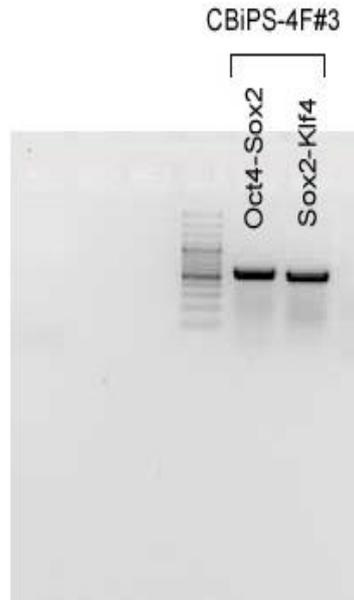
Fecha: 02/06/2015

Breve descripción del método

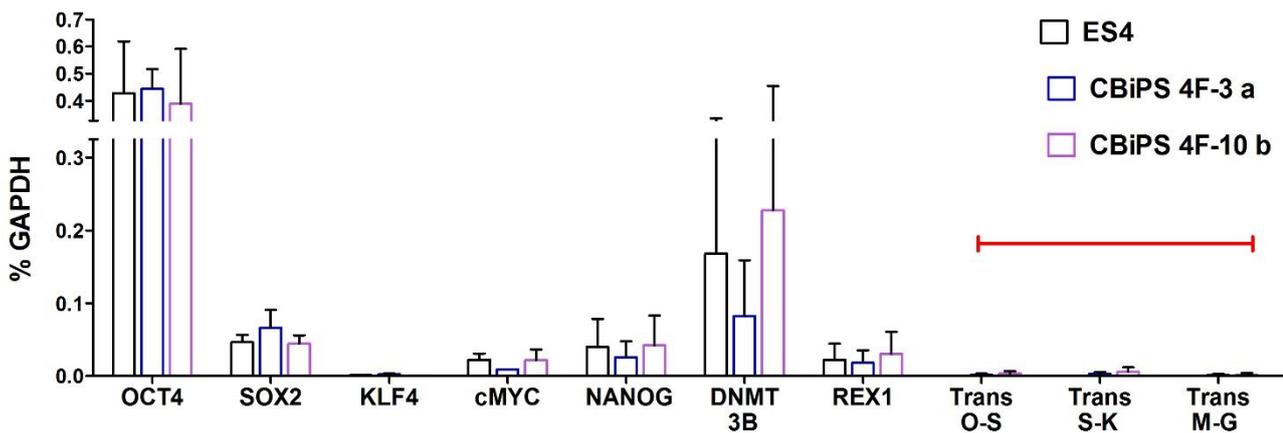
El estudio se ha realizado mediante el genotipado de marcadores STR (también conocidos como microsatélites: *TH01*, *D21S11*, *D5S828*, *D13S317*, *D7S820*, *D16S539*, *CSF1PO*, *vWA* y *TPOX*). La combinación de los nueve marcadores utilizados produce un perfil de alelos con una probabilidad de coincidencia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

Anexo 6

Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación



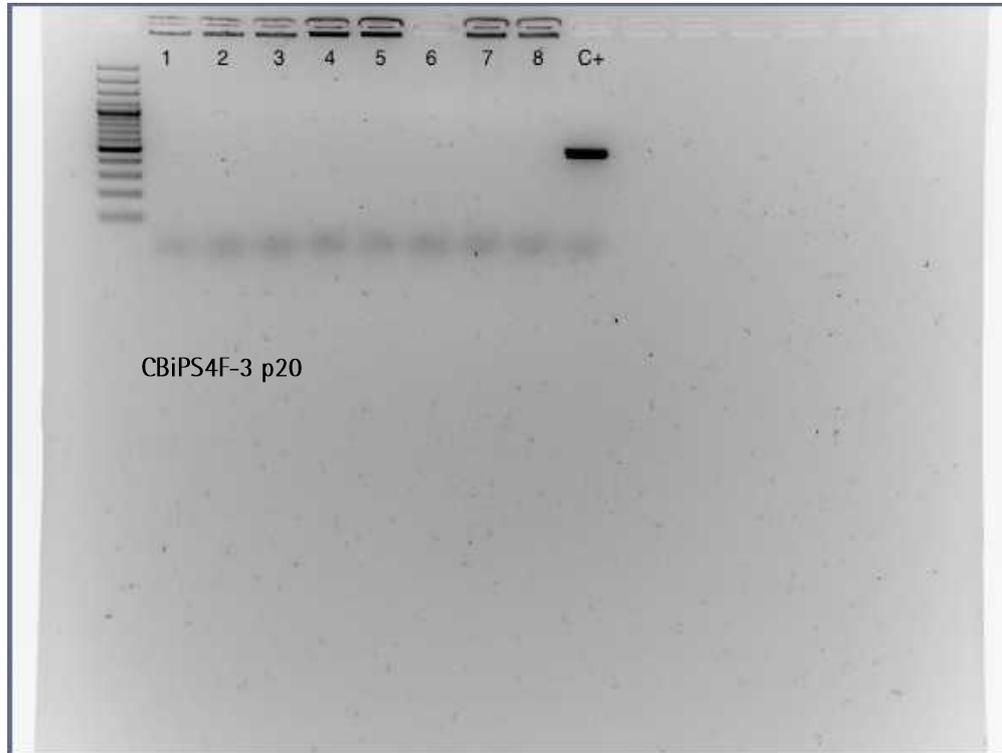
Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los 4 genes utilizados Oct-4, Sox-2, Klf4 y c-myc para generar la línea CBiPS-4F-3a (el vector utilizado fue el policistrónico pMXs-OSKMG con los 4 genes: Oct4, Sox2, Klf4, cMyc, en un solo vector)



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 7

Resultado Test de micoplasma (PCR)



Resultado test micoplasma CBiPS-4F-3a fase 20 (Carril 4)