

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [DUP7]FiPS-4F-4-6 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: Análisis microsatélites

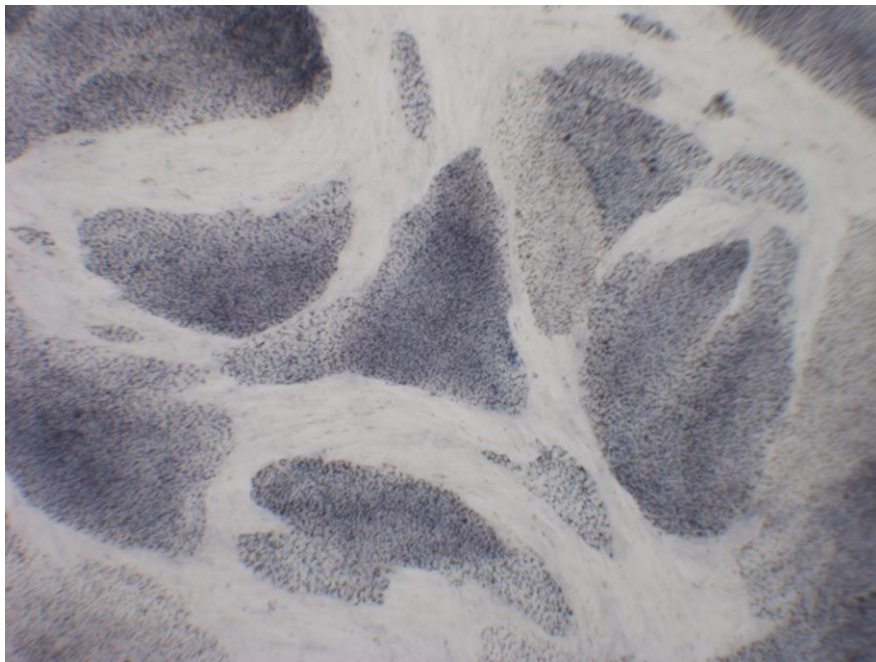
Anexo 6: Test de integració y silenciament

Anexo 7: Genotipació de la línia

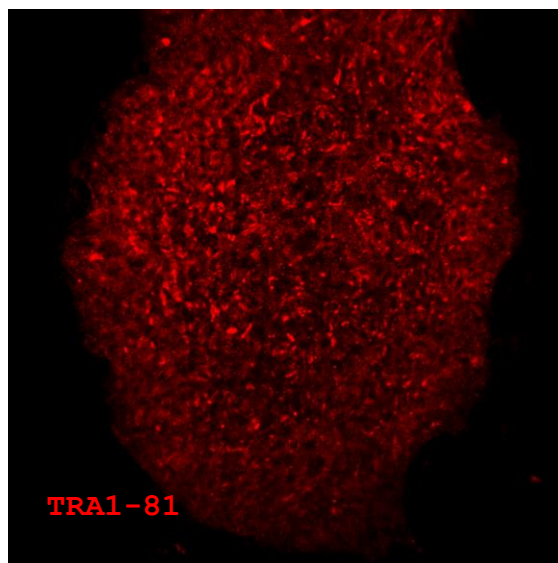
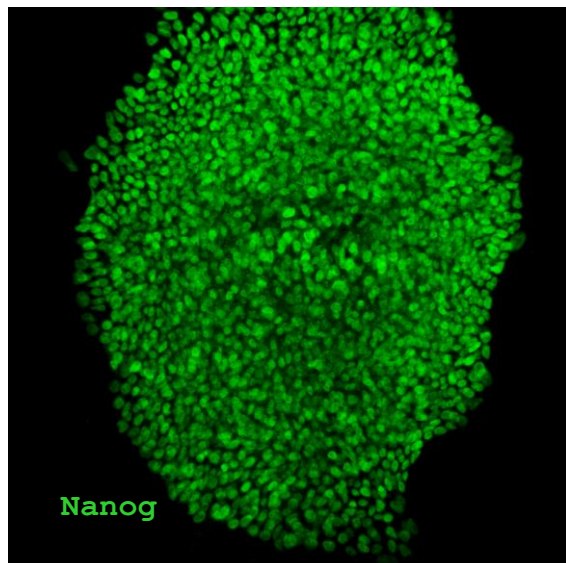
Anexo 8: Test de micoplasma

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

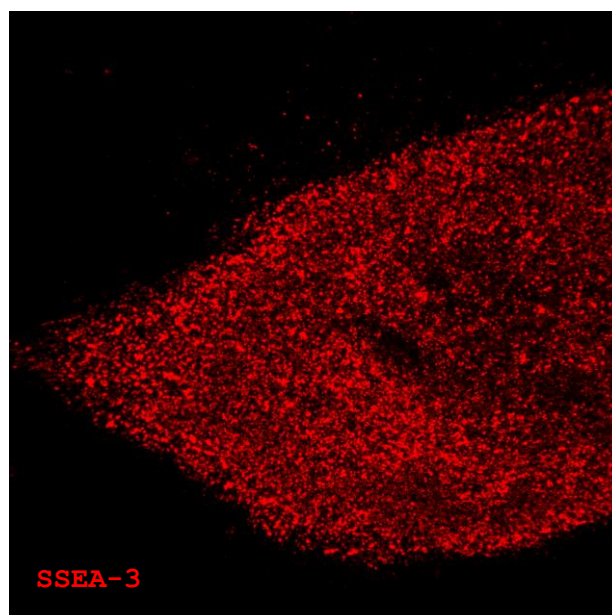
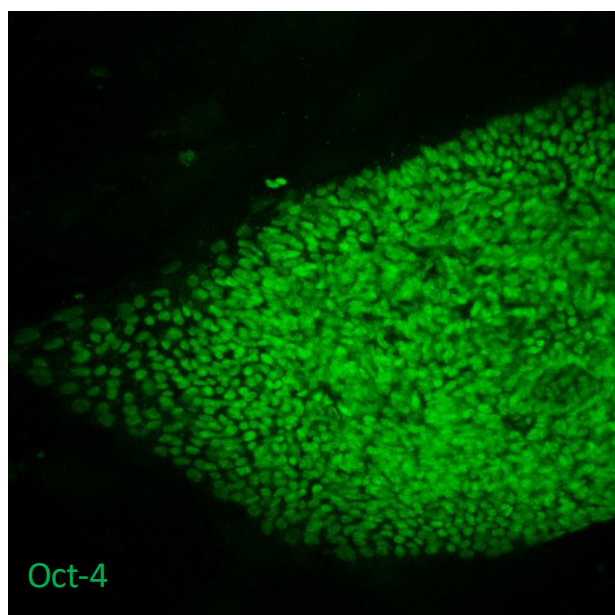


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células madre pluripotentes



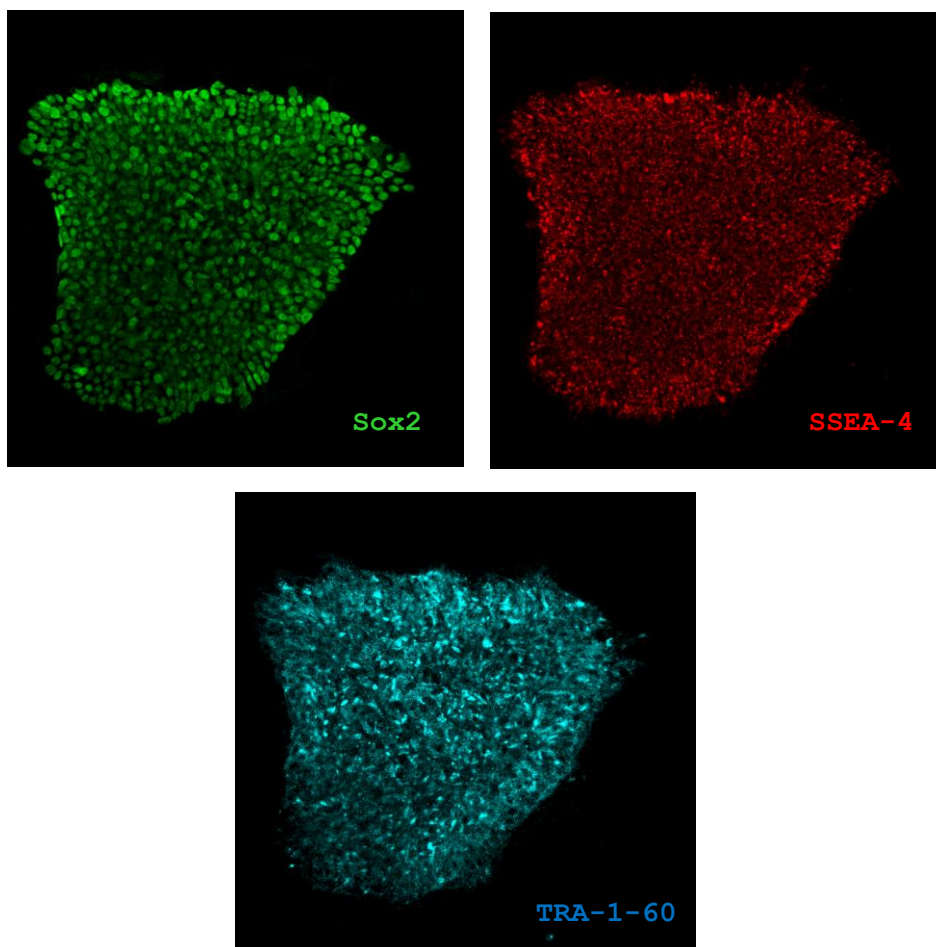
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas

Oct-4 y SSEA-3

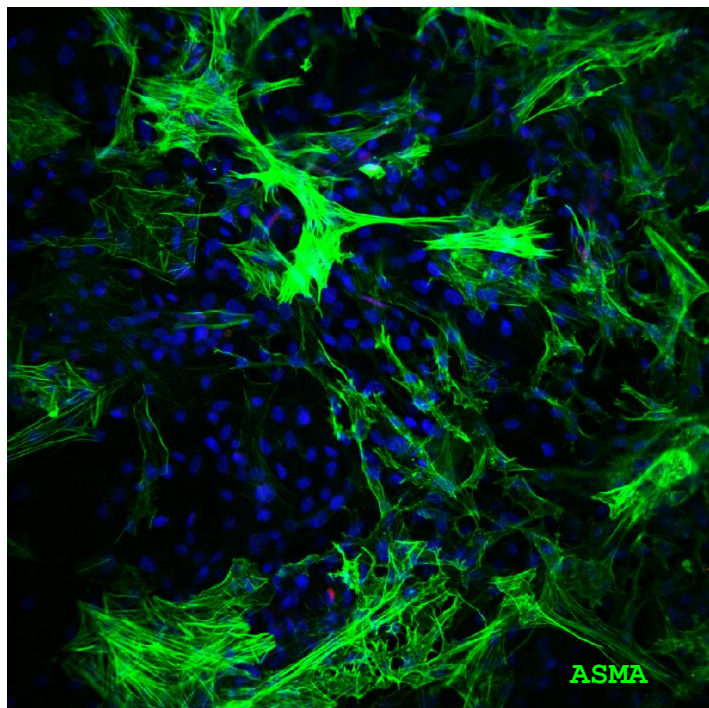


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas

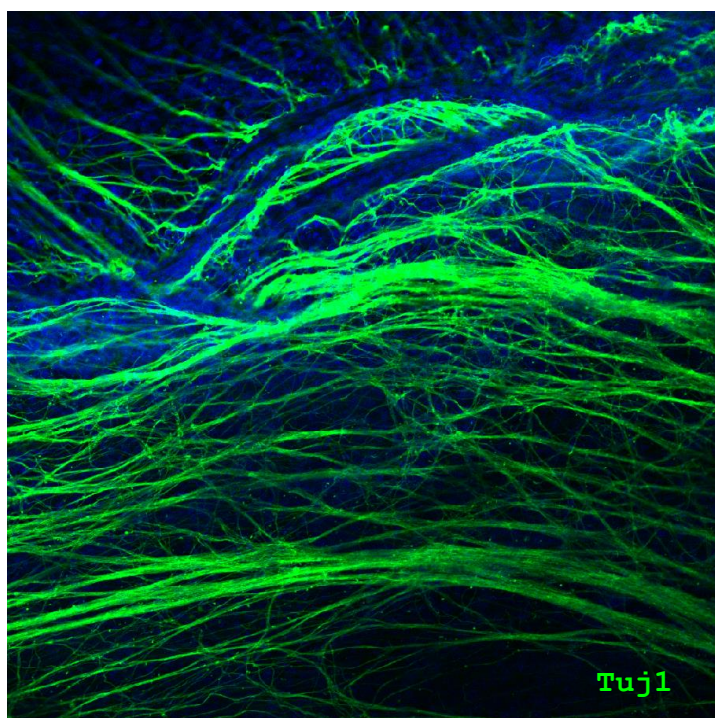
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 2

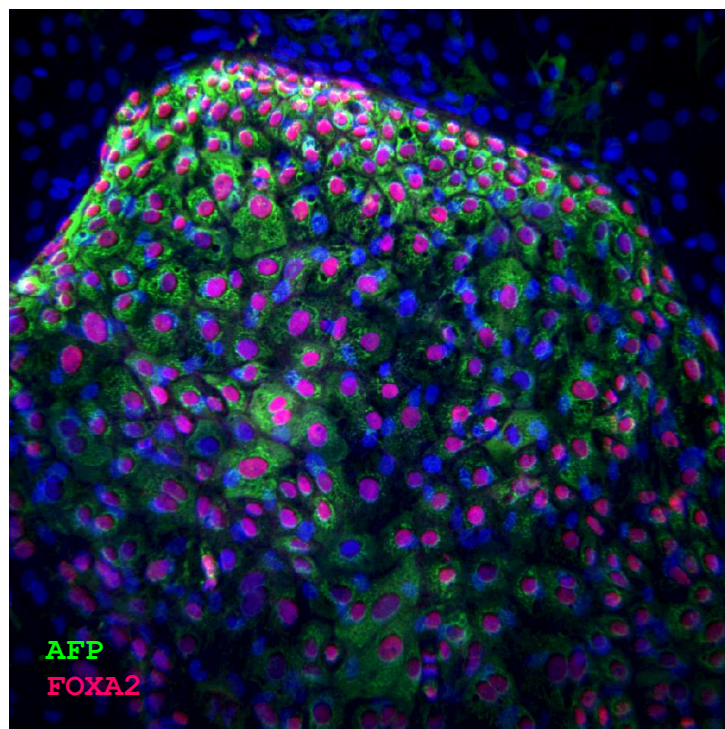
Diferenciación *in vitro*



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



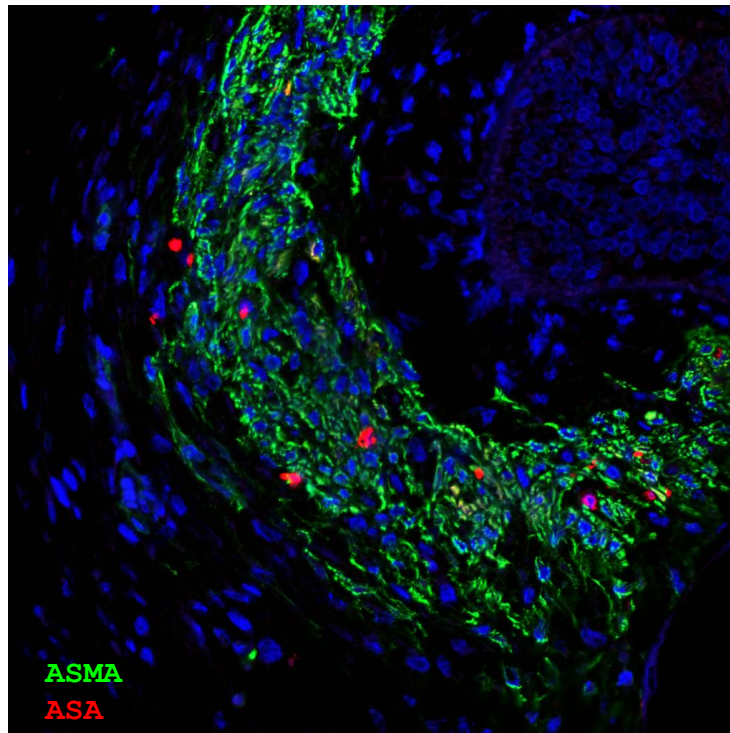
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1**



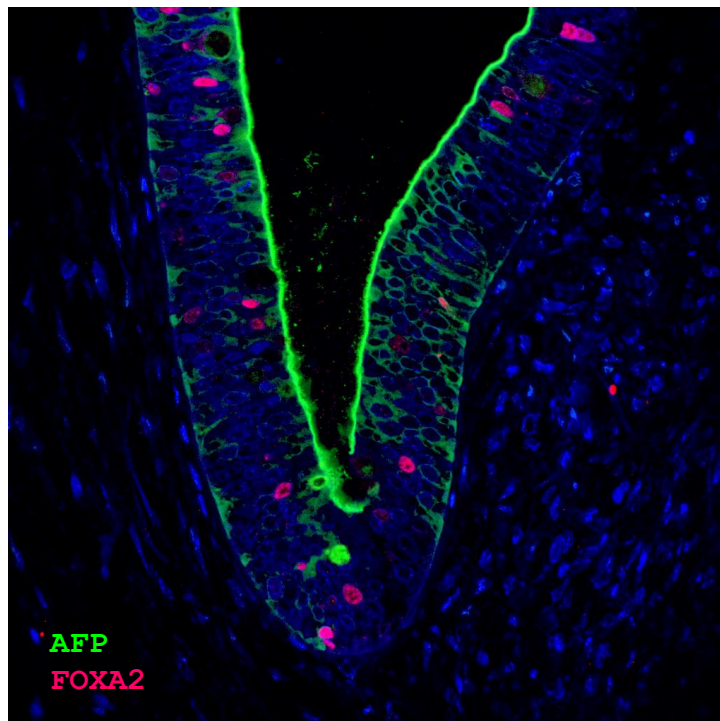
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP y FOXA2**

Anexo 3

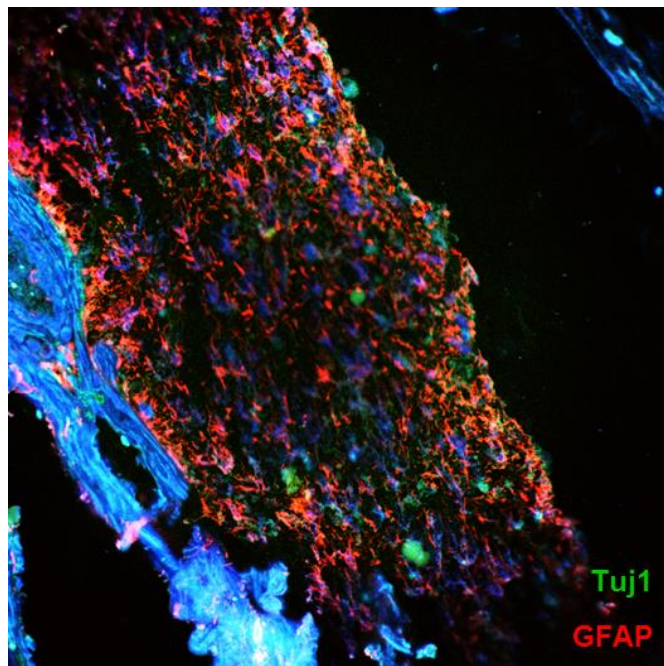
Diferenciación *in vivo*



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



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

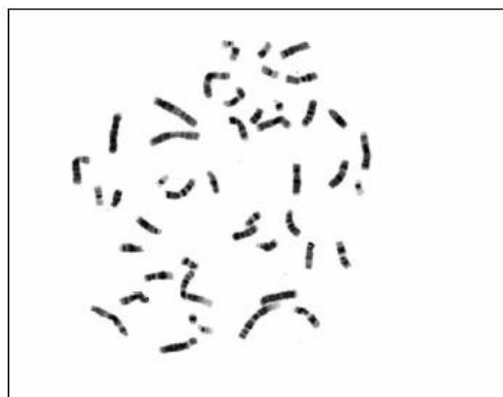
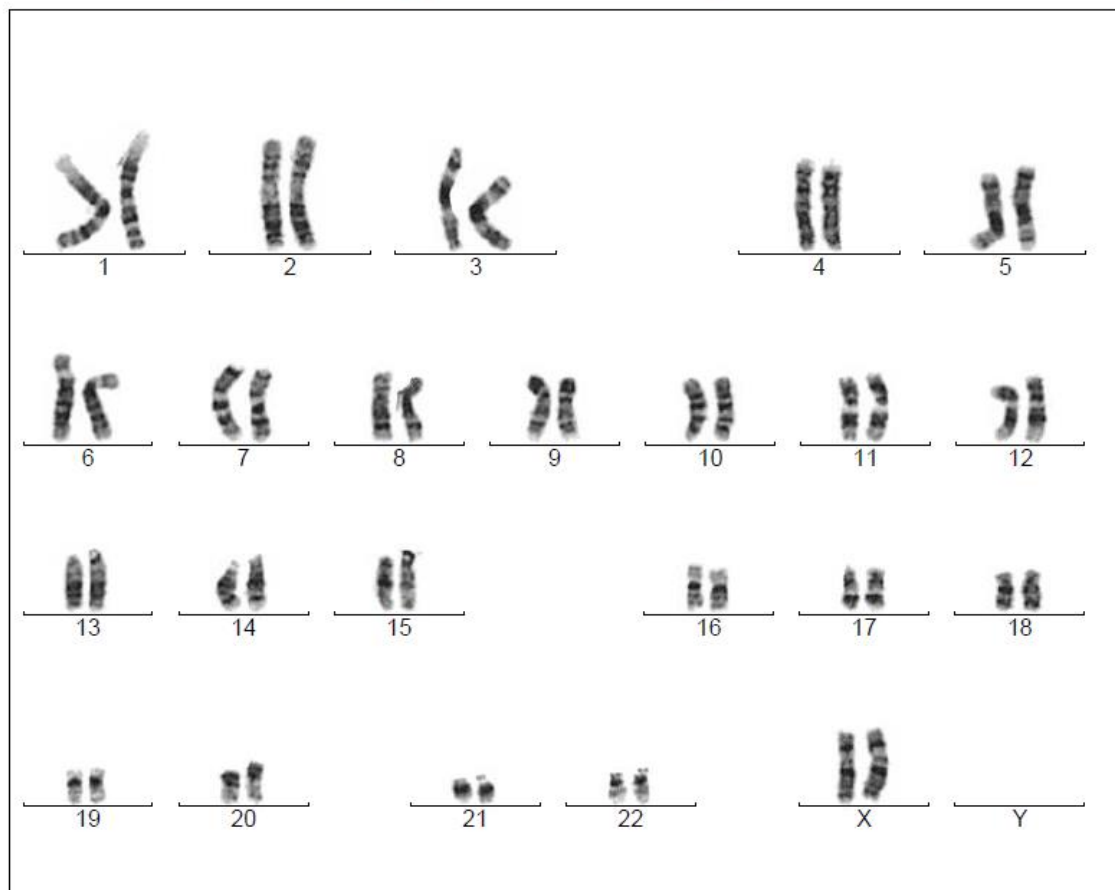


Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **TUJ1 y GFAP**

Anexo 4

Cariotipo

Cytogenetic analysis



Case name: A149914

Patient name: FiPS DUPSW4 4-6

Specimen type: stem cells

Result: 46,XX

*La nomenclatura FiPS DUPSW4 4-6 corresponde a la de la línea [DUP7]FiPS-4F-4-6

[DUP7]FiPS-4F-4-6

Anexo 5

Análisis de 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: DUP7 FiPS4F-4-6
Identificador interno: qG15013841
Descripción: 1 epp amb pellet

Informe de resultados

Resultados

Calidad de la muestra: Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
DUP7 FiPS4F-4-6	6-8	27-29	11-11	8-12	8-8	12-13	8-10	XX	15-18	11-11

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 Fibros DUPSW4-01 p4 (qG15013842)

Firmado:
Manel Garcia

Fecha: 20/07/2015

Informe de resultados

Resultados

Calidad de la muestra: Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
Fibros DUPSW4-01 p4	6-8	27-29	11-11	8-12	8-8	12-13	8-10	XX	15-18	11-11

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 DUP7 FiPS4F-4-6 (qG15013841)

Firmado:
Manel Garcia

Fecha: 20/07/2015

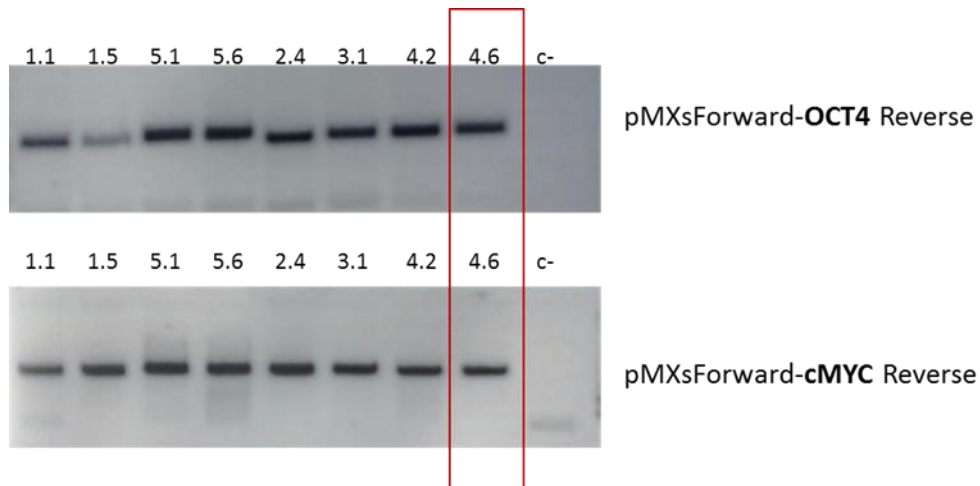
Análisis de microsatélites en la línea de células madre pluripotentes y en la línea de fibroblastos de la cual proceden

[DUP7]FiPS-4F-4-6

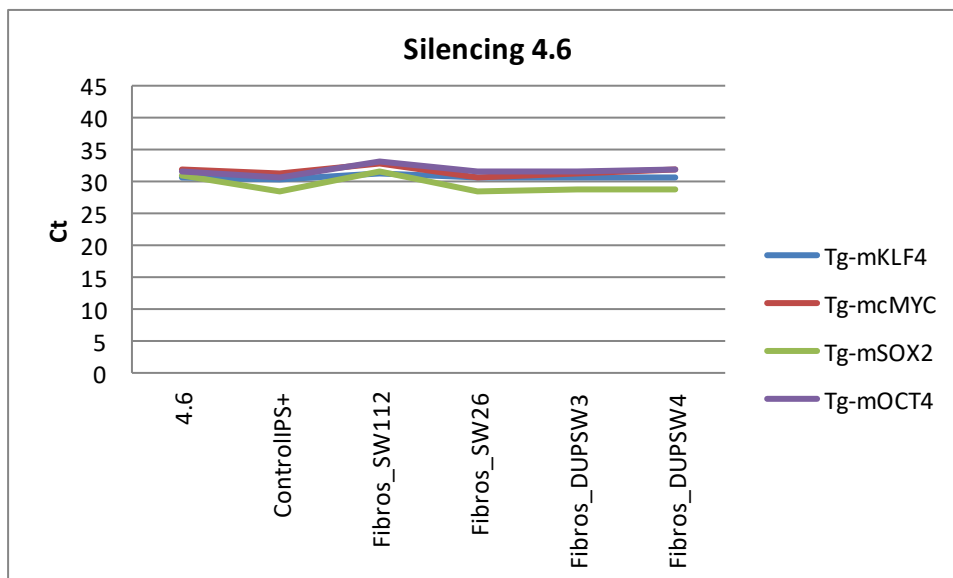
Anexo 6

Tests de integración y silenciamiento

Integration Study by PCR analysis of genomic DNA Constructs used (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) & (pMXsKLF4 MYC-GFP)



Silencing study by qRT-PCR of Tg markers of cDNA

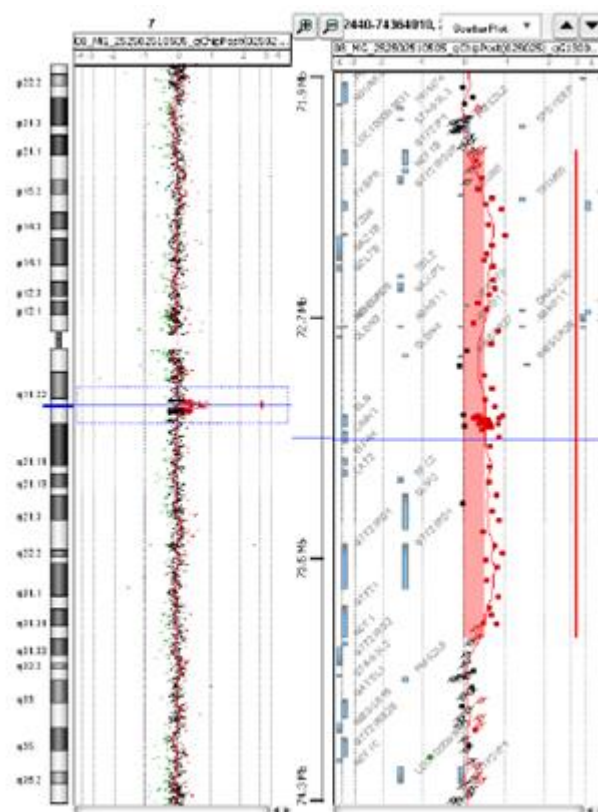


El clon 4.6 señalado en las figuras corresponde a la línea **[DUP7]FiPS-4F-4-6**

Anexo 7

Genotipación de la línea

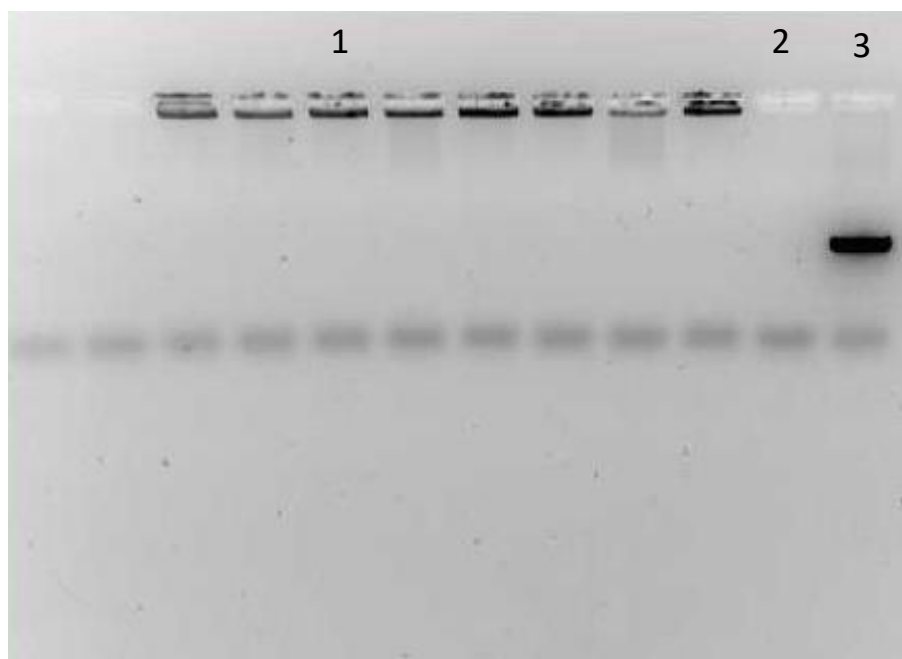
Genotyping showing the 1.5Mb duplication of 7q11.23 model by CGH array.



Anexo 8

Test de micoplasma

MYCOPLASMA TEST



1. [DUP7]FiPS-4F-4-6
2. CT -
3. CT +

El carril 1 corresponde al análisis de micoplasma de la línea [DUP7]FiPS-4F-4-6