



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **MD FiPS3236-Sv4F-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: Resultados microsatélites

Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

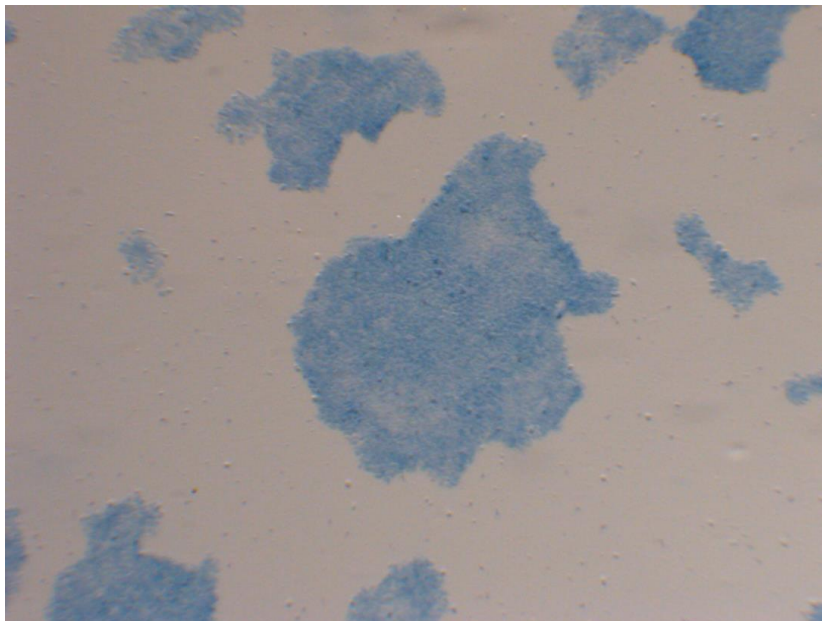
Anexo 6: Confirmación de la presencia de la mutación

Anexo 7: Resultado test de micoplasma

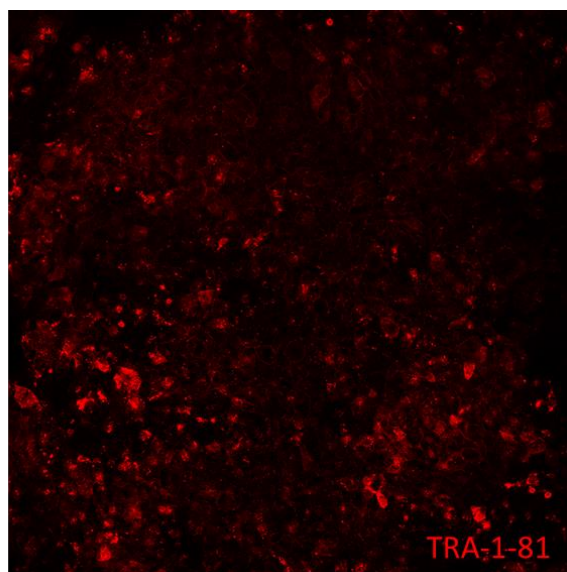
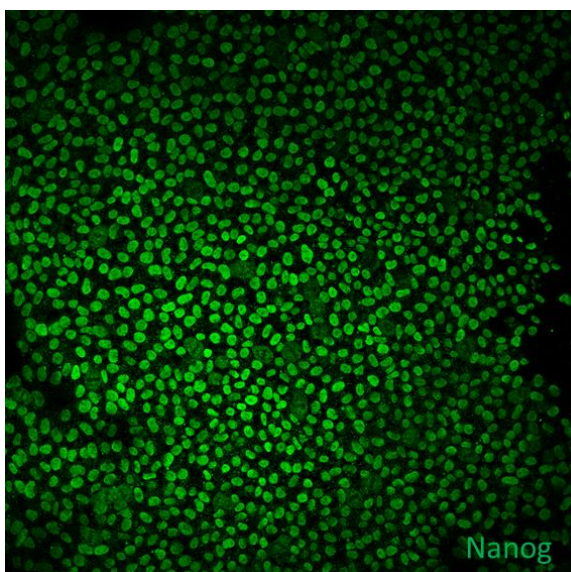


Anexo 1

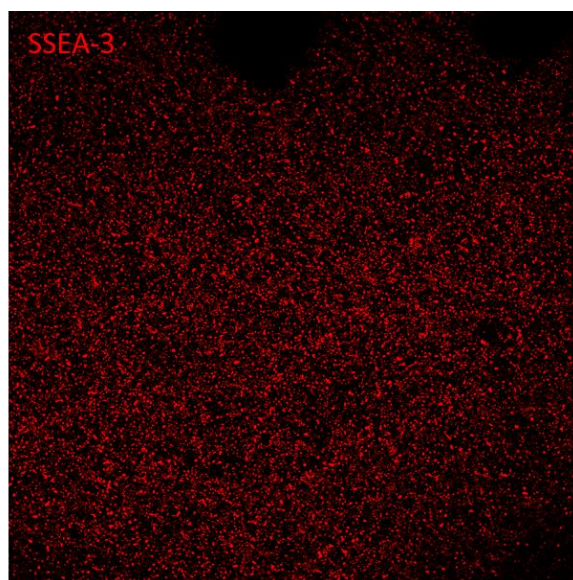
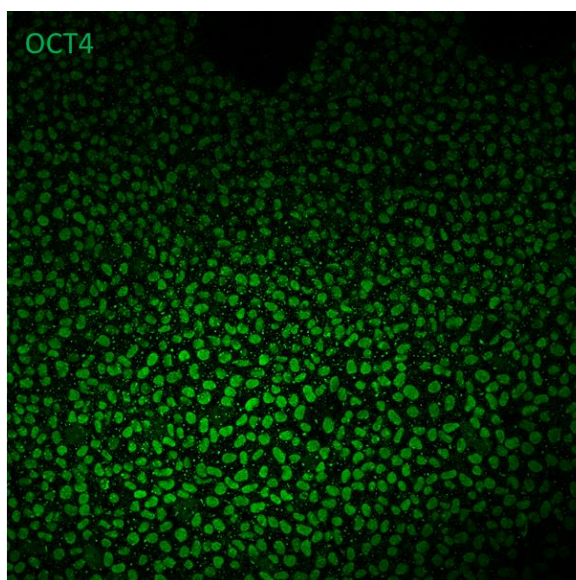
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia



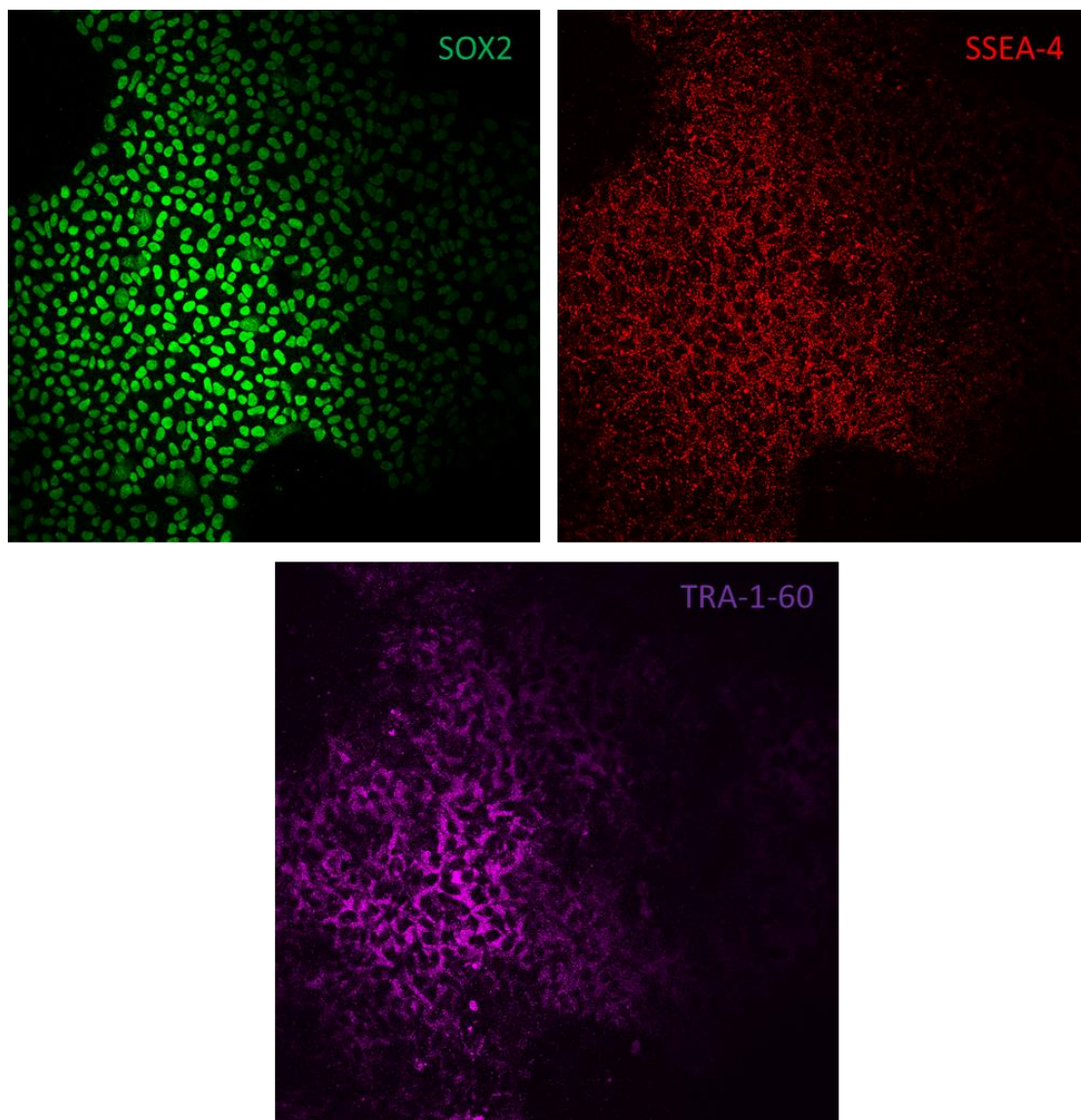
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



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



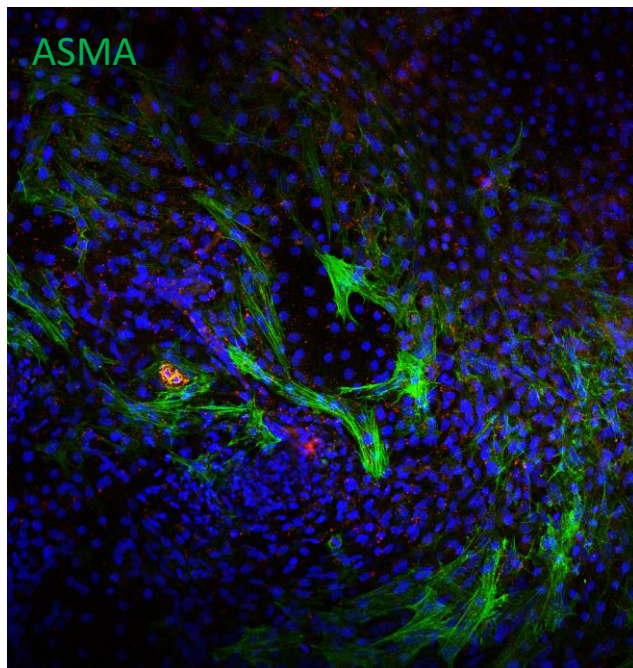
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

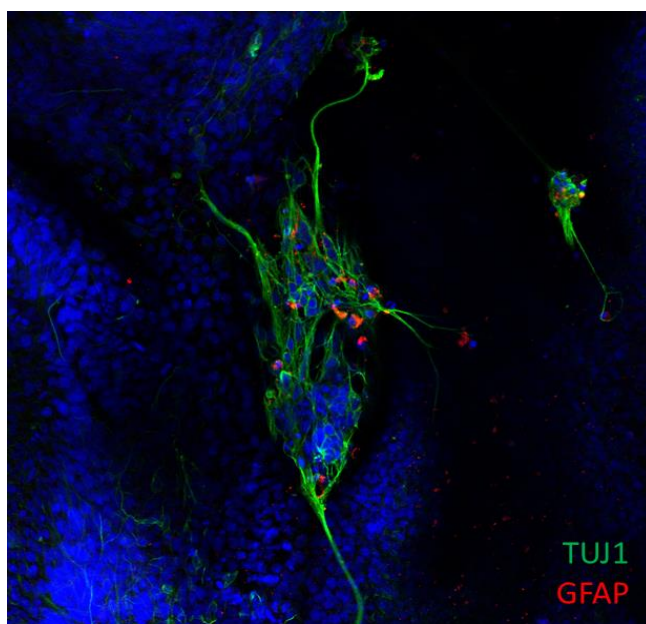


Anexo 2

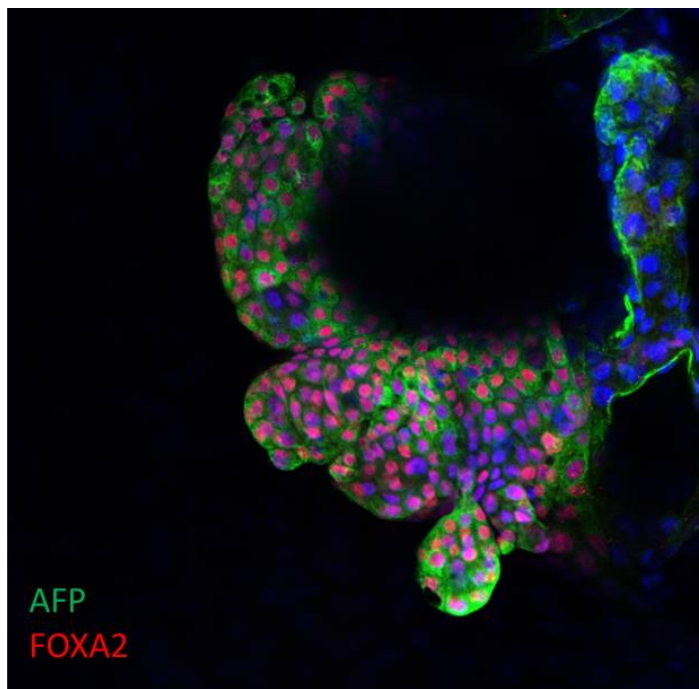
Diferenciación *in vitro*



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

ESTUDIO CITOGENETICO

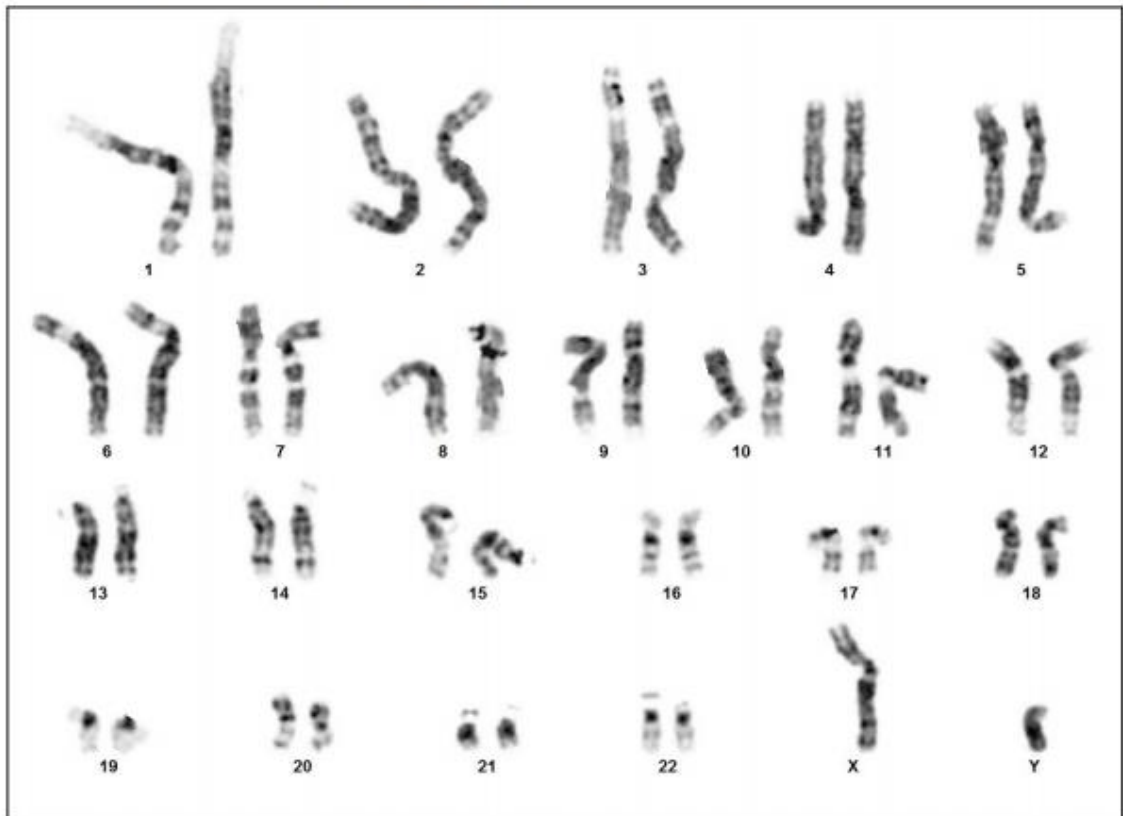
Case name: 0130936

NHC: CT0195

Nombre y Apellidos: MDFIPS3236-Ep6F-9 p16

Servicio: IDIBELL

Tipo de muestra: CM



Case: 0130936 Slide: 1 Cell: 3

Resultado: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsátélites

P-CMR[C]

RESULTADOS:

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

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
MD FIPS3236-Sv4F-9 p16	6	30; 31	10; 11	11; 12	11	12; 13	10; 12	X; Y	16; 18	8; 9

P-CMR[C]

RESULTADOS:

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

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
Fb 3236 fibroblasts, P4, 0,3M cells, 30.07.20	6	30; 31	10; 11	11, 12	11	12; 13	10; 12	X, Y	16, 18	8; 9

Barcelona, a 02 de noviembre de 2020

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

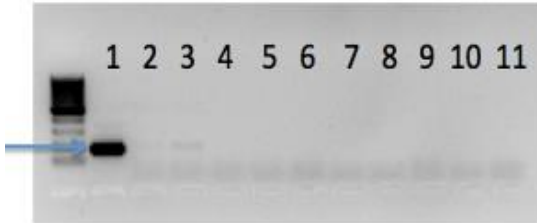
Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.



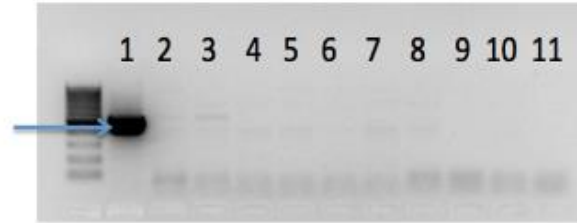
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

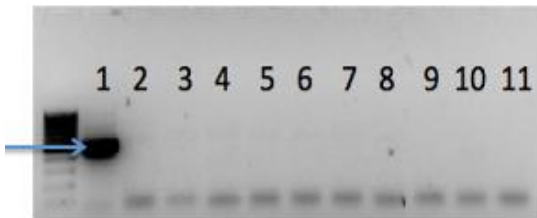
Sev (181 bp)



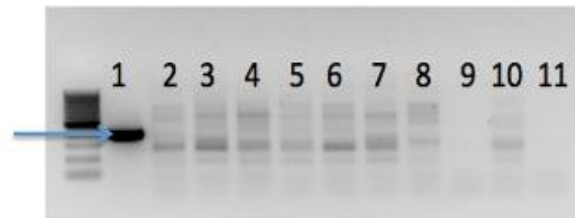
c-Myc (532 bp)



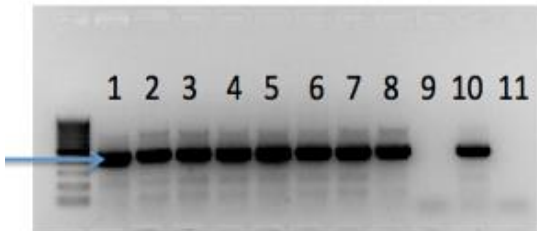
KOS (528 bp)



Klf4 (410 bp)



GAPDH



RT-PCR SENDAI 2.0 03/11/2020

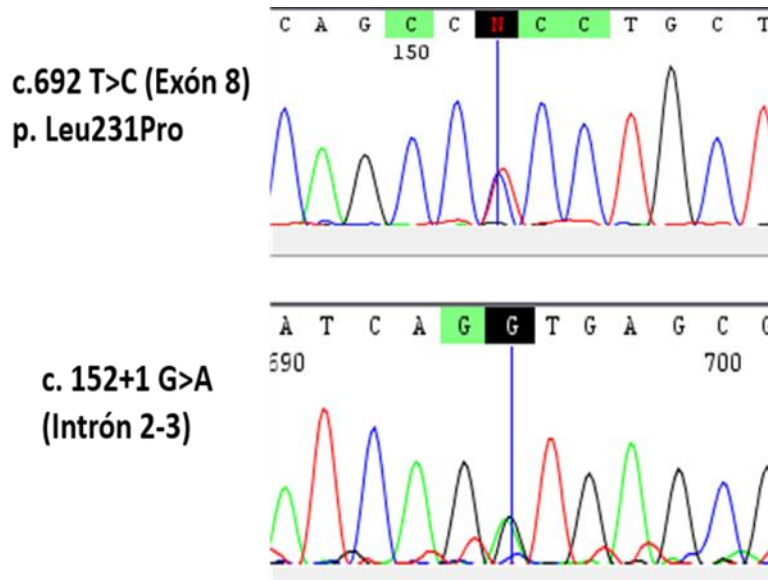
1. Control + SENDAI 2.0
2. MD FiPS3236 Sv4F-1, P7, mg, 26.10.20
3. MD FiPS3236 Sv4F-2, P8, mg, 26.10.20
4. MD FiPS3236 Sv4F-5, P8, mg, 22.10.20
5. MD FiPS3236 Sv4F-6, P8, mg, 26.10.20
6. MD FiPS3236 Sv4F-7, P8, mg, 26.10.20
7. MD FiPS3236 Sv4F-9, P8, mg, 26.10.20
8. MD FiPS3236 Sv4F-10, P8, mg, 26.10.20
9. Sample 2 NO RT
10. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE)
11. H2O

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



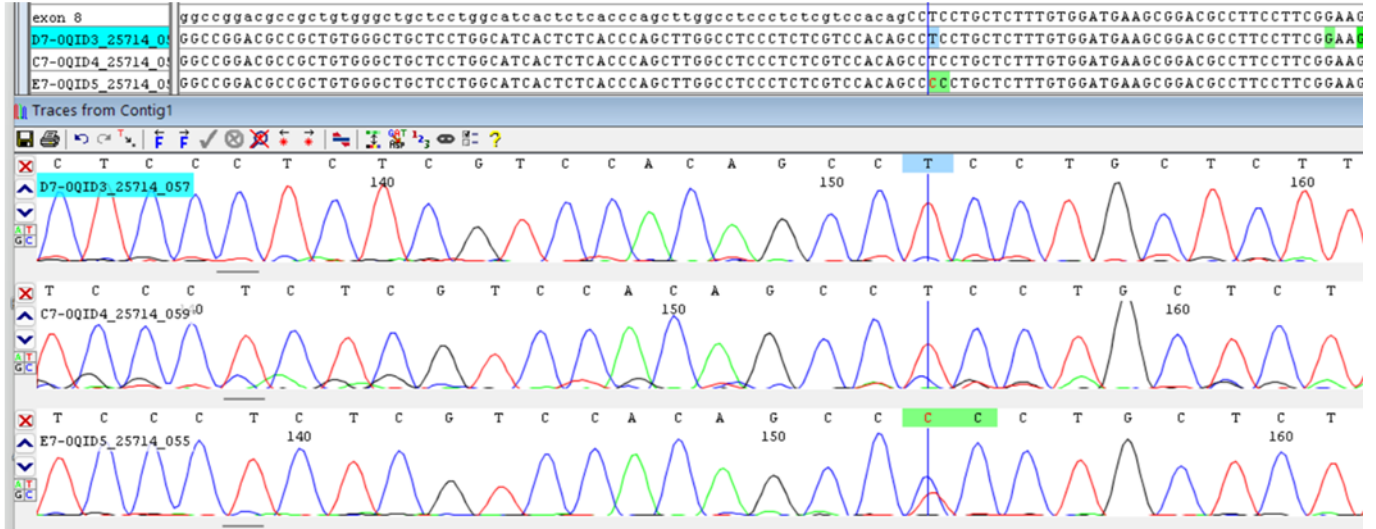
Anexo 6
Confirmación de la presencia de la mutación

Fb ATAD3C

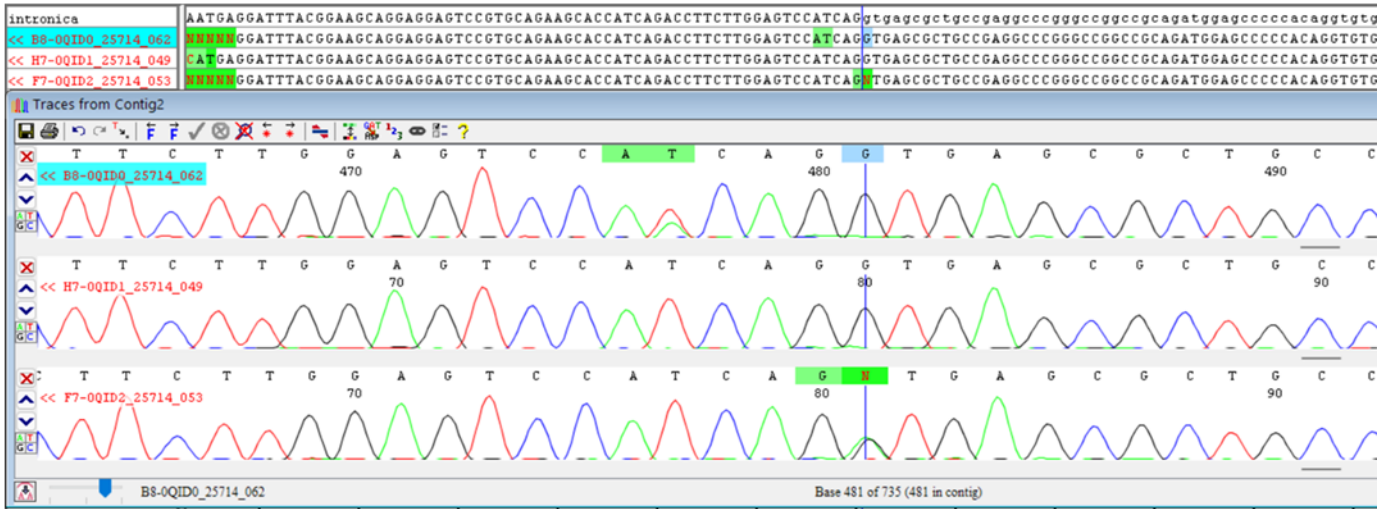


Confirmación de las mutaciones *ATAD3C* en fibroblastos de la muestra de ATAD3c (Fb3236)

Mutación c.692T>C Leu231Pro (Exón 8) en ATAD3C



Mutación c.152+1 G>A (Intrón 2-3) en ATAD3C



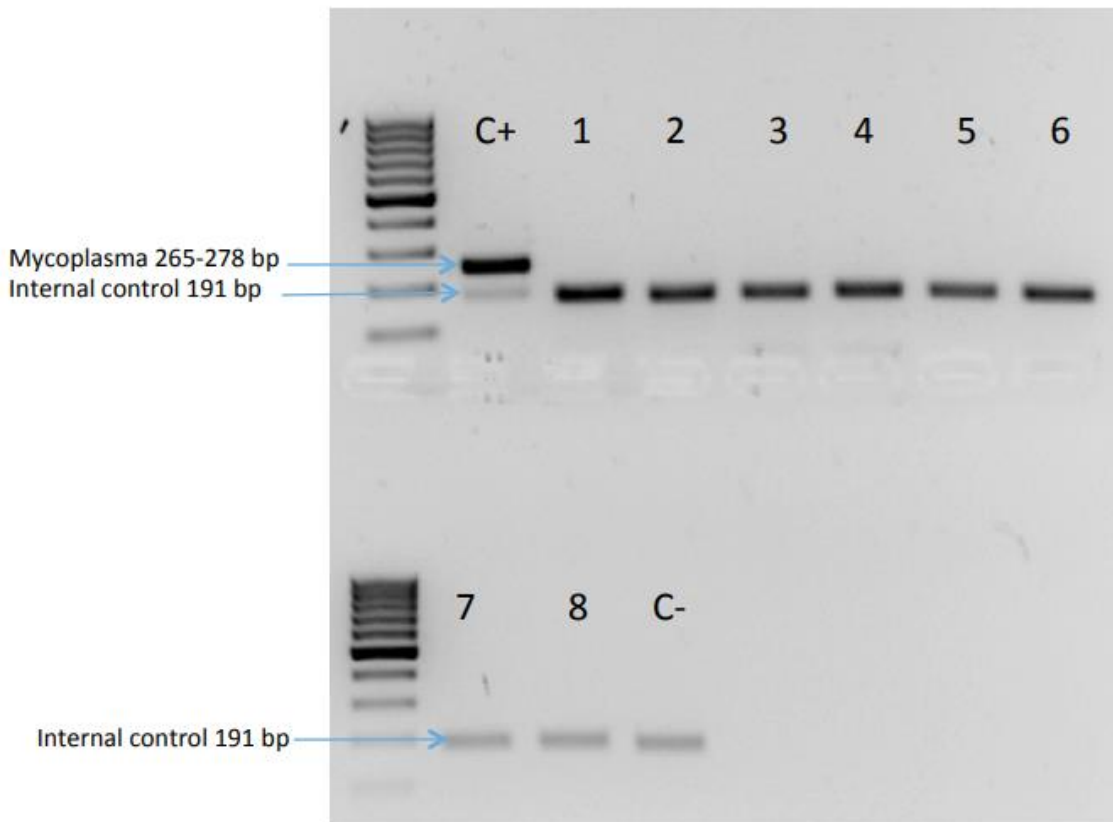
Confirmación de las mutaciones ATAD3C en MD FiPS3236-Sv4F-9



Anexo 7

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 13/01/2021



1. MD FiPS3236-Sv4F-9 p15
2. MD FiPS3304-Sv4F-5 p11