

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR DUPSW FiPS301-R4F-1 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

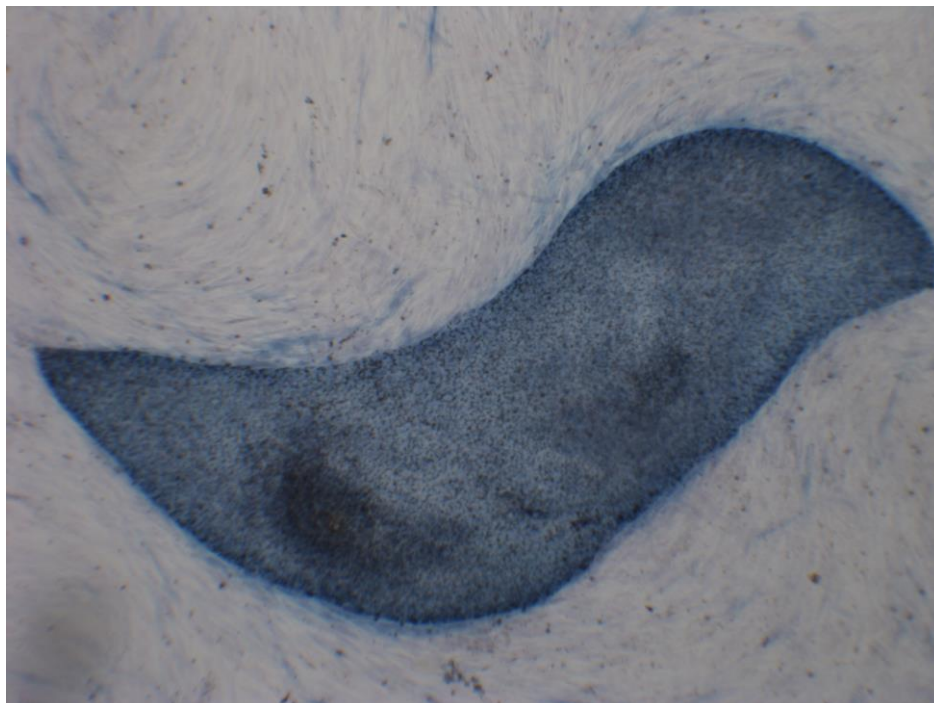
Anexo 6: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

Anexo 7: Genotipado

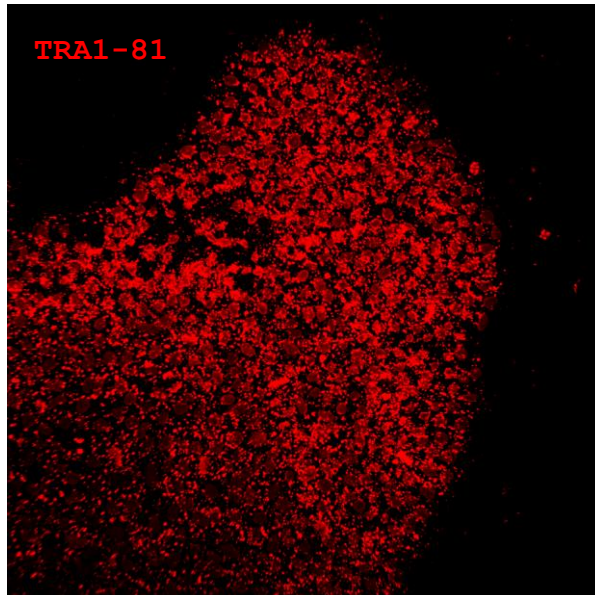
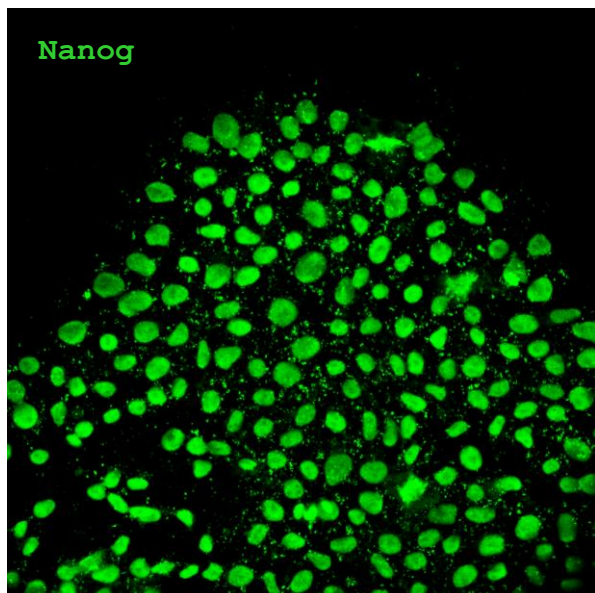
Anexo 8: Resultado test de micoplasma

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

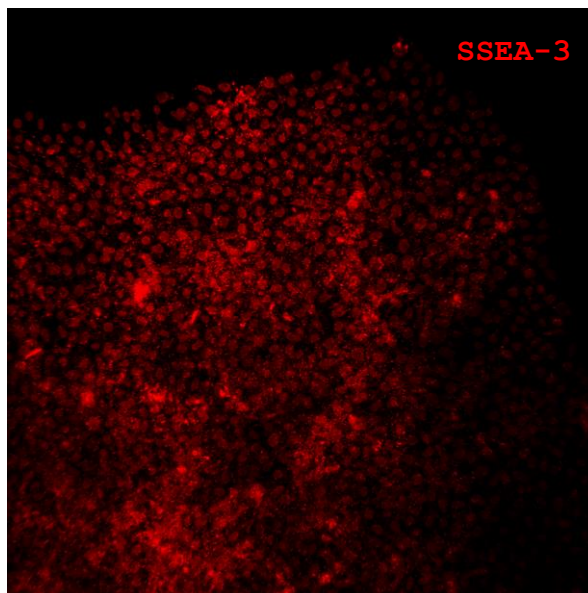
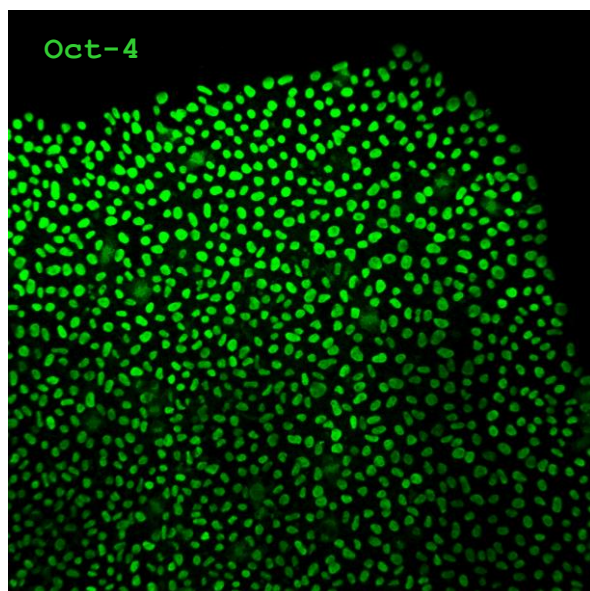


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



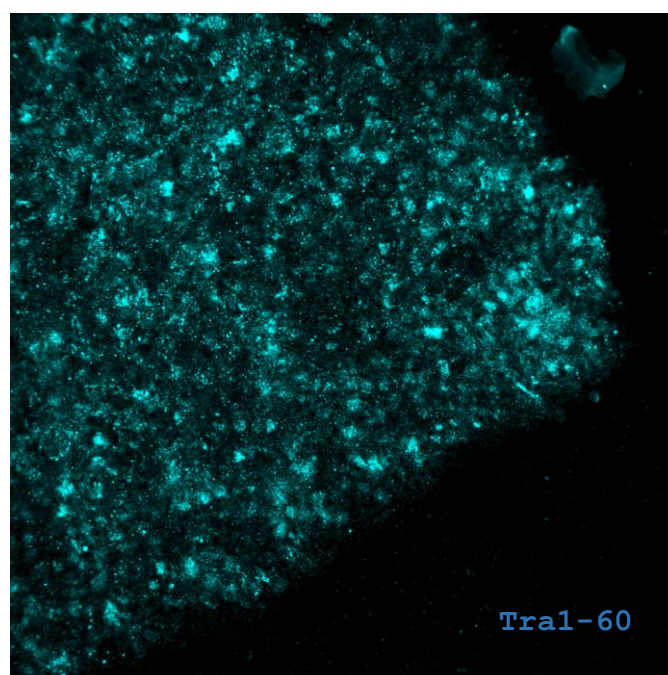
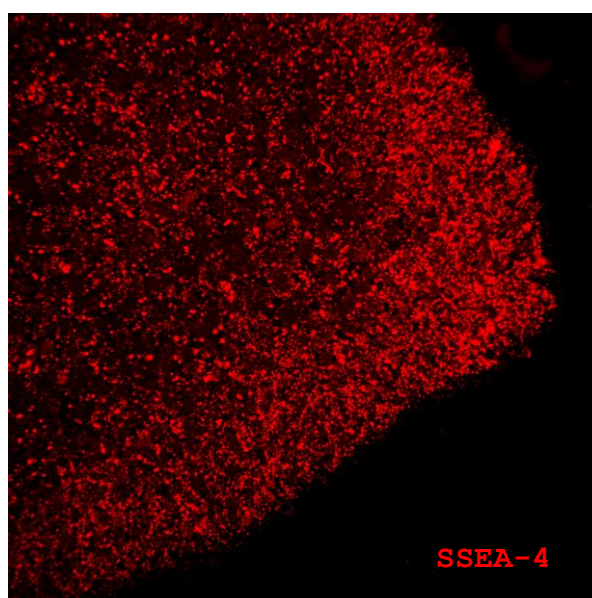
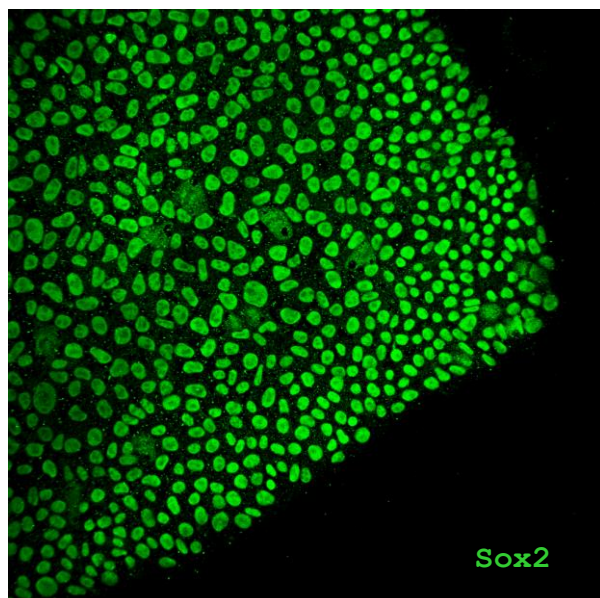
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3

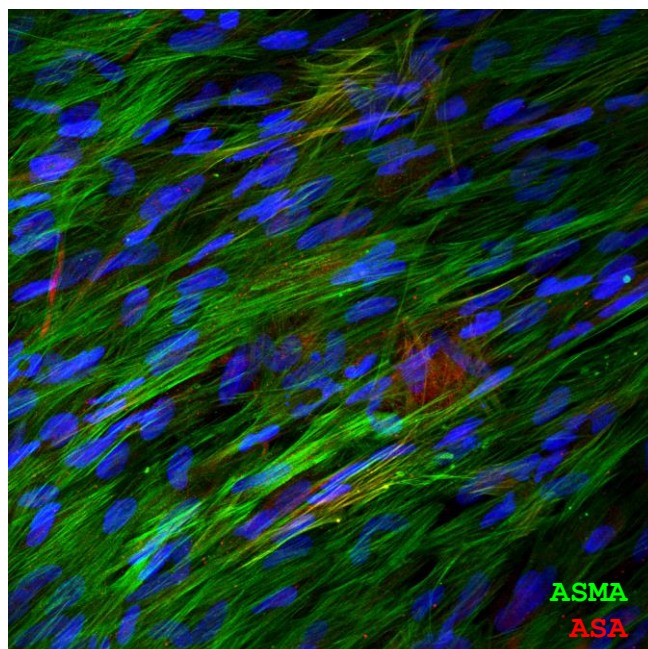


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

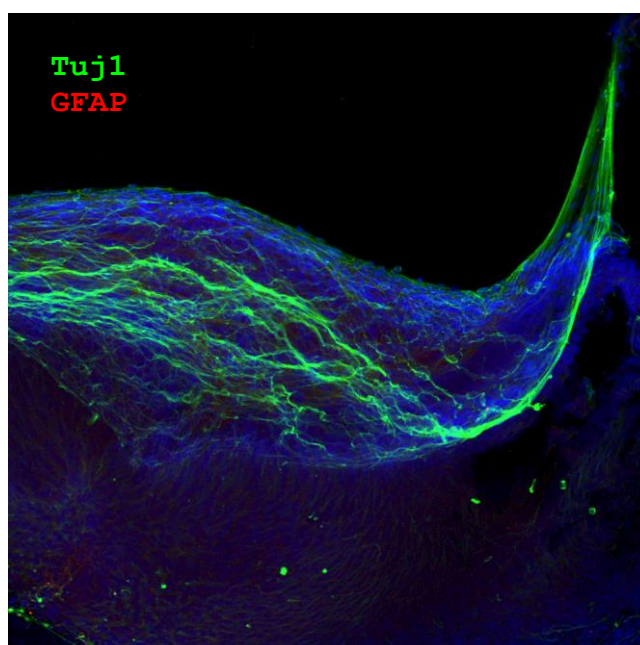
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 2

Diferenciación *in vitro*



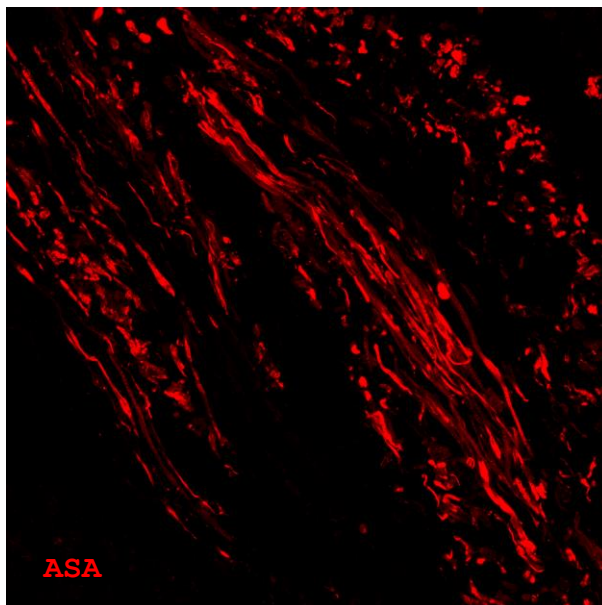
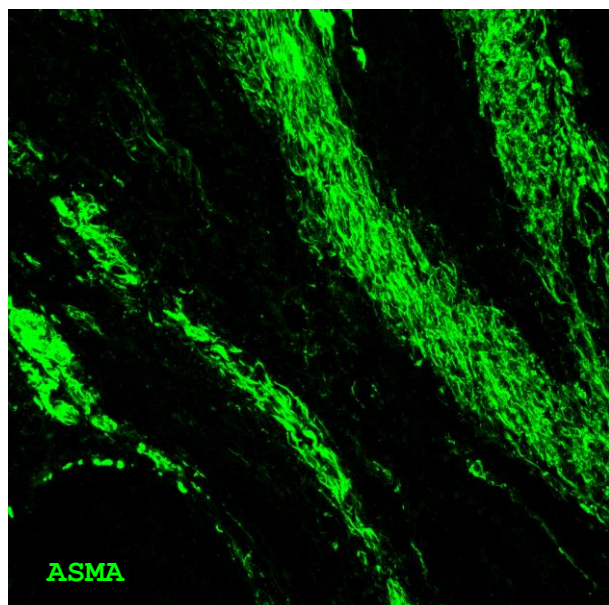
Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y ASA**



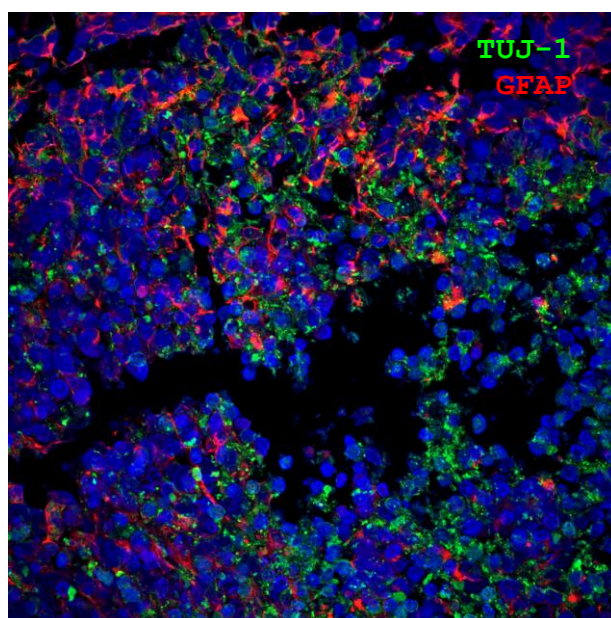
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1 Y GFAP**

Anexo 3

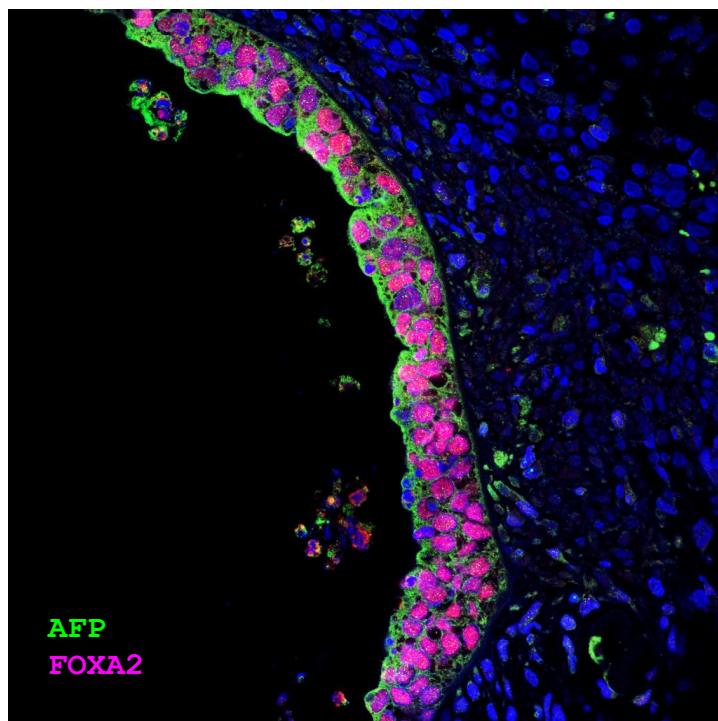
Diferenciación *in vivo*



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



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

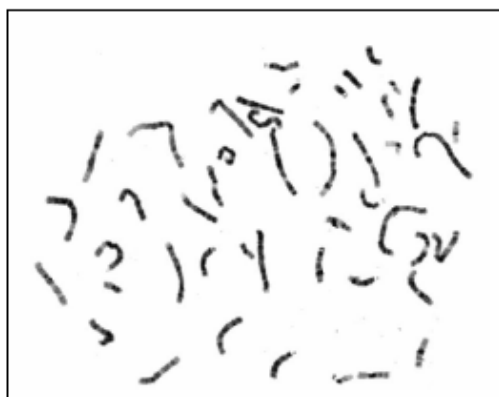
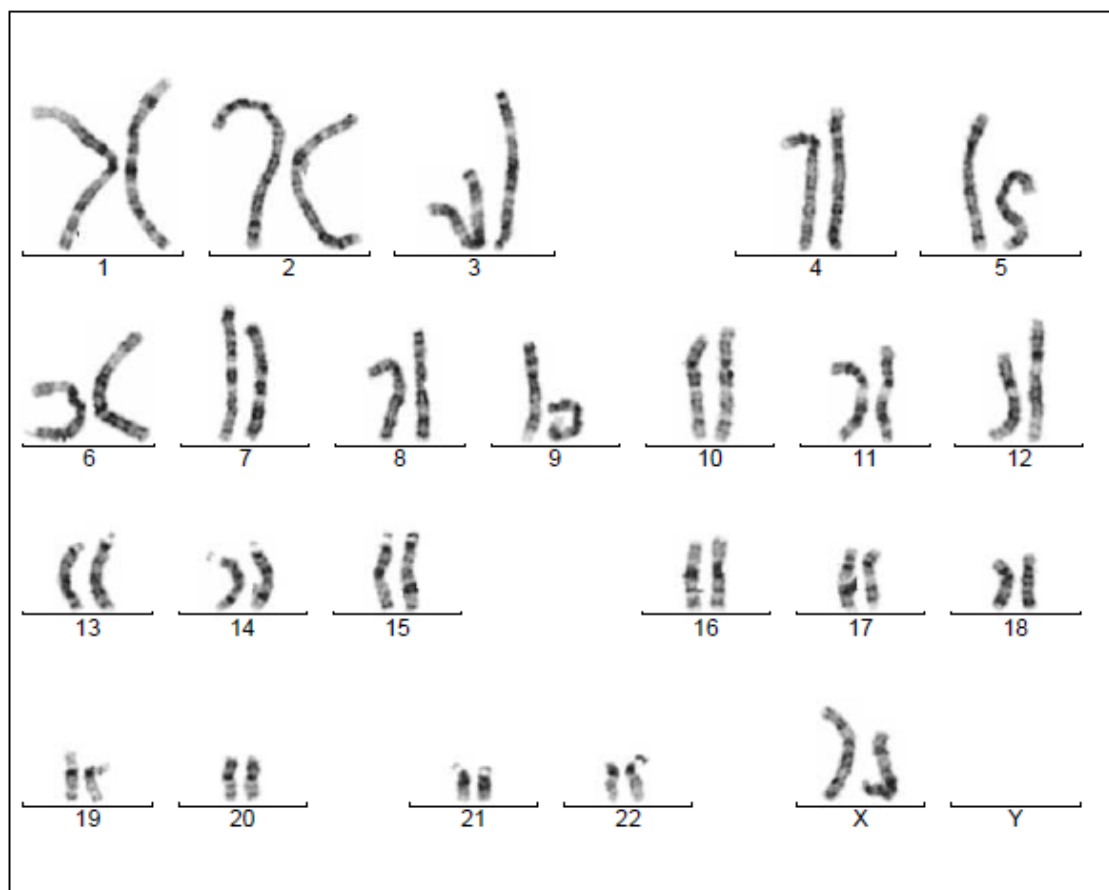


Diferenciación in vivo a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**

Anexo 4

Cariotipo

Cytogenetic analysis



Case name: A178145

Patient name: DUPSW FiPS 301-R4F-1 p11

Specimen type: stem cells

Result: 46,XX

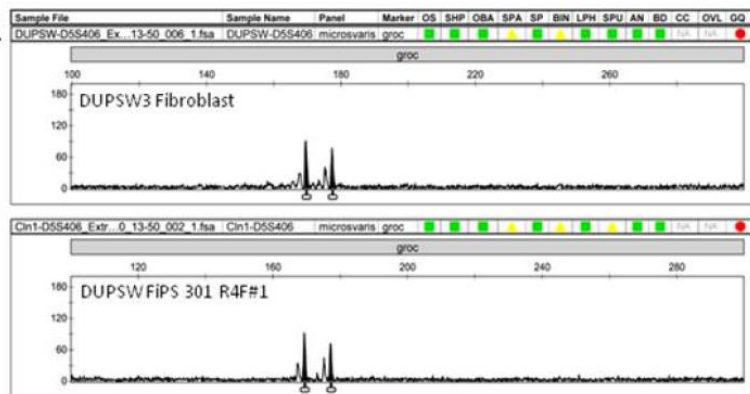
Anexo 5

Resultado microsatélites

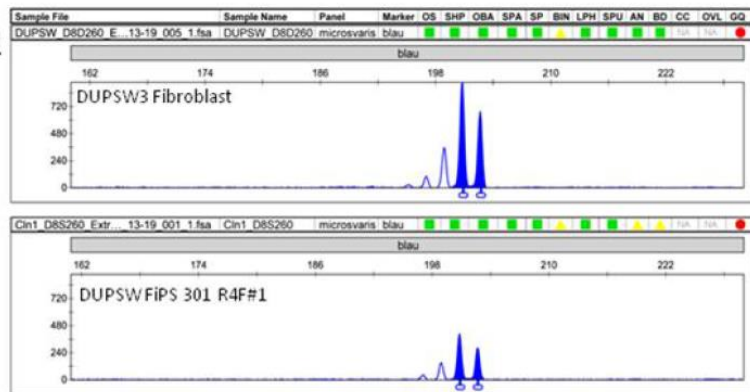
Caracterization of clone DUPSW FiPS 301 R4F#1

1) Microsatellite Study. Samples analyzed: Original Fibroblast and derived FiPs

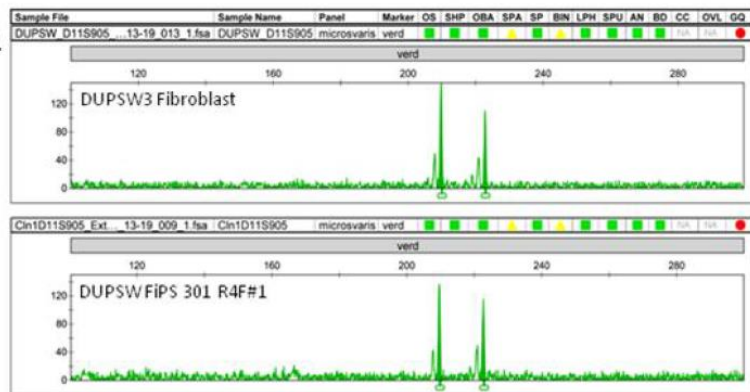
D5S406



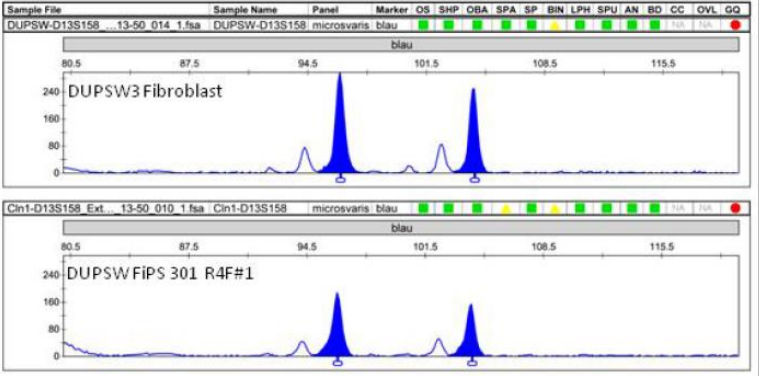
D8S260



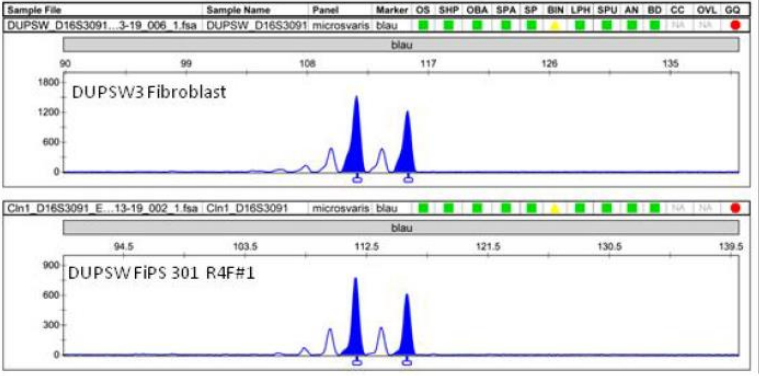
D11S905



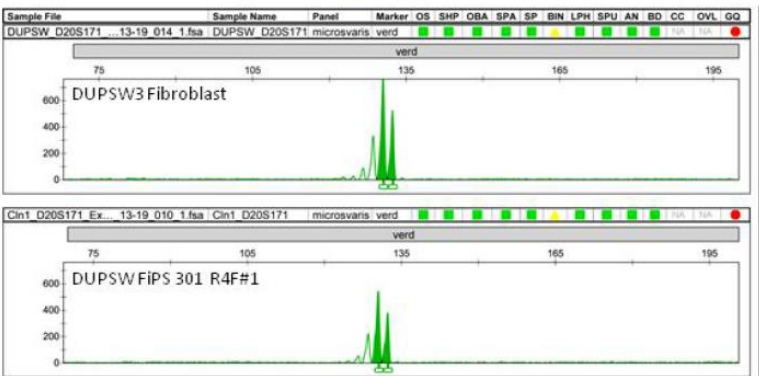
D13S158



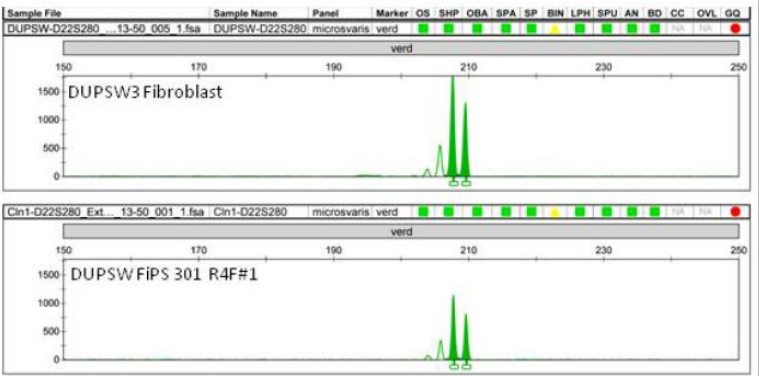
D16S3091



D20S171



D22S280

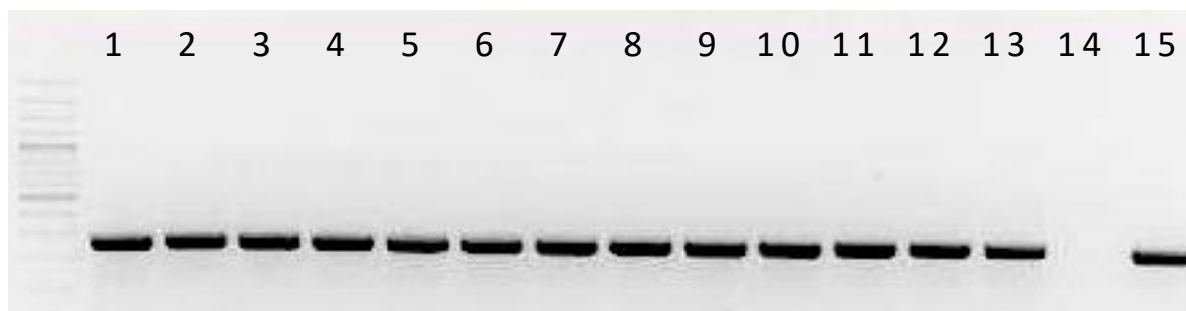


Anexo 6

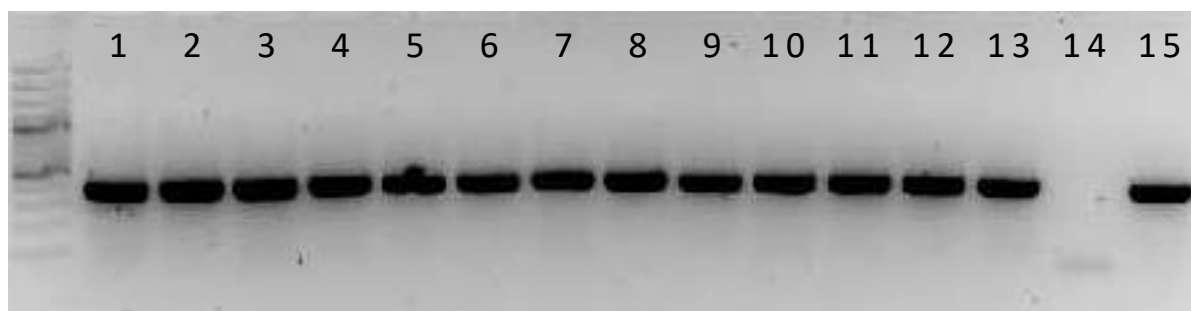
Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

M16091
Integration PCR
22/06/16

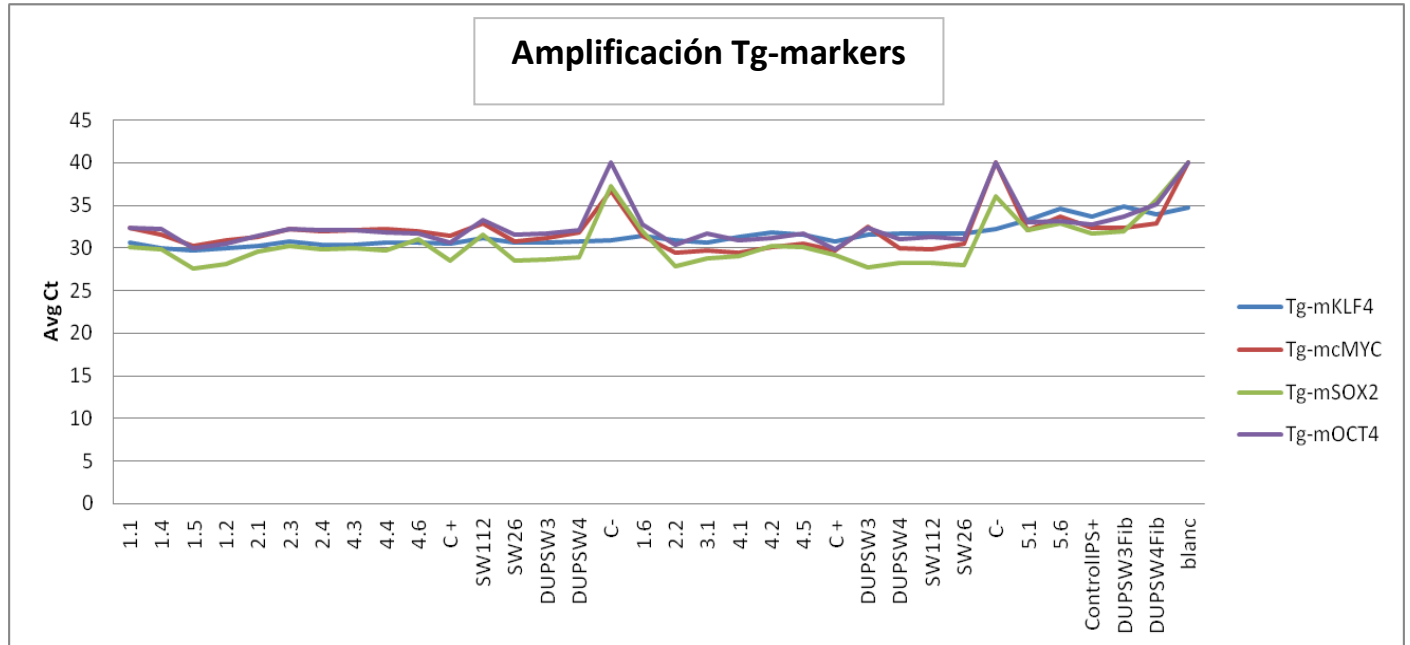
Oct4 – Sox2



Klf4 - cMyc



Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los genes utilizados para generar la línea.



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

Anexo 8

Genotipado

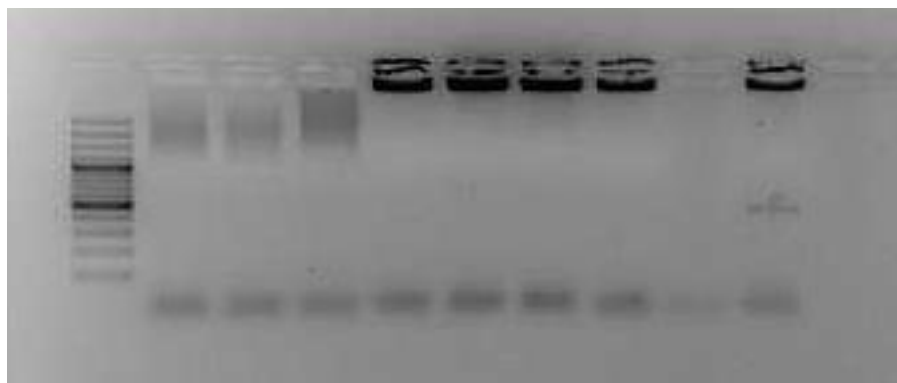
Anexo 7

Resultado test de micoplasma

MYCOPLASMA TEST

14-09-2016

1 2 3



1. DUPSW FiPS 301 R4F-1 p8
2. CT -
3. CT +