



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **Hz 1-8-3 CBiPS4-Sv4F-F6** EN EL
BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

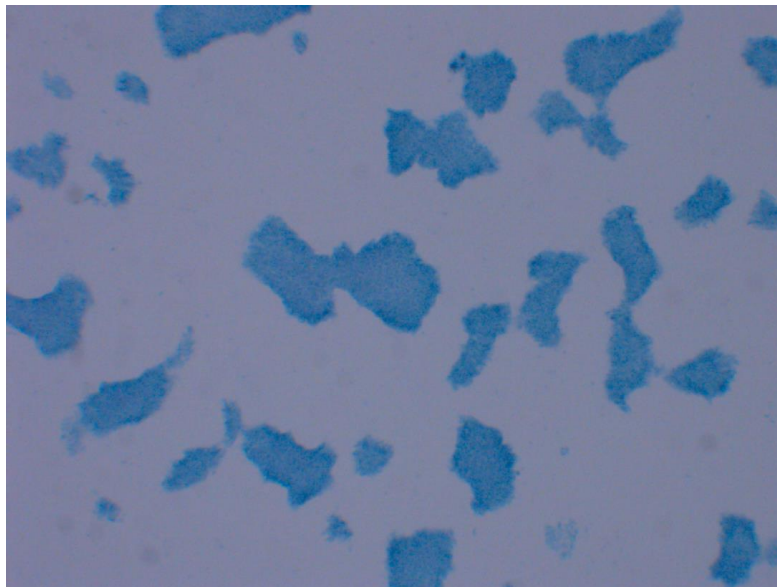
Anexo 4: Resultados microsatélites

Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

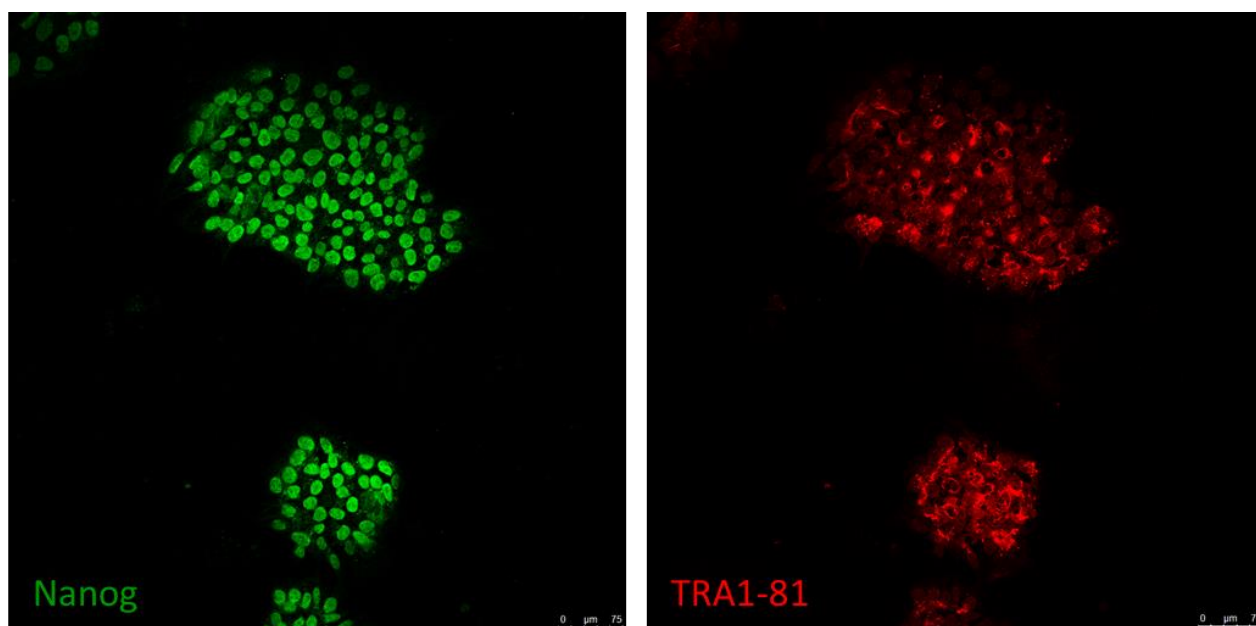
Anexo 6: Resultado test de micoplasma

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

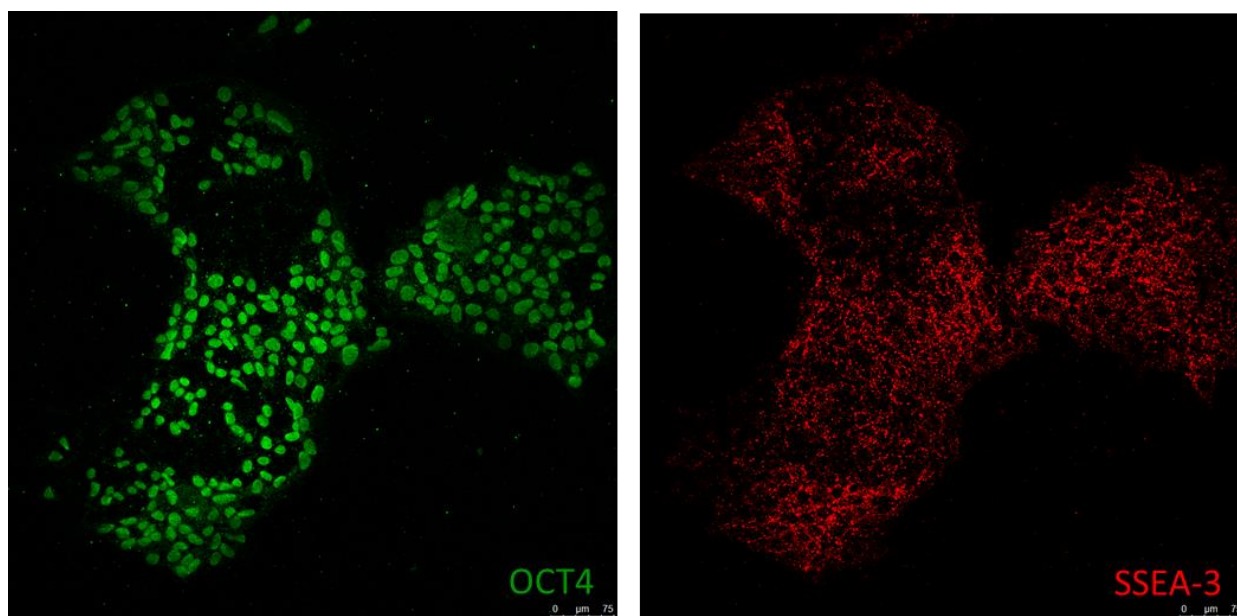


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



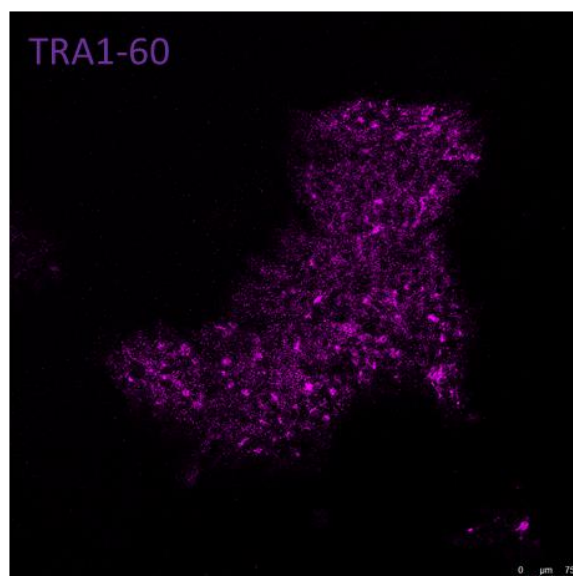
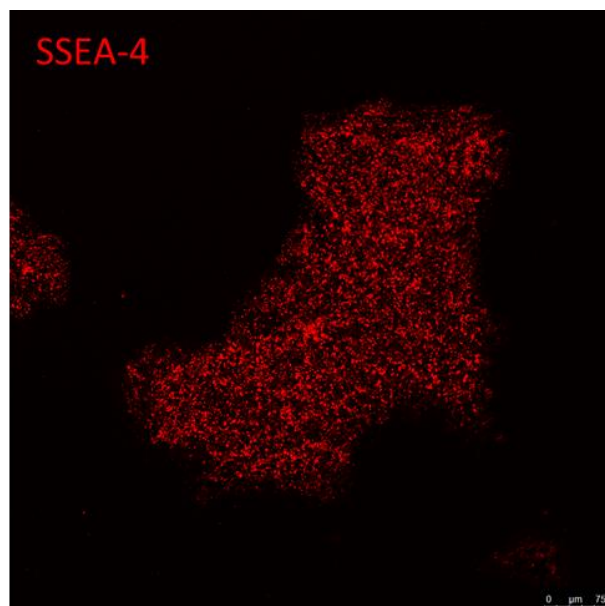
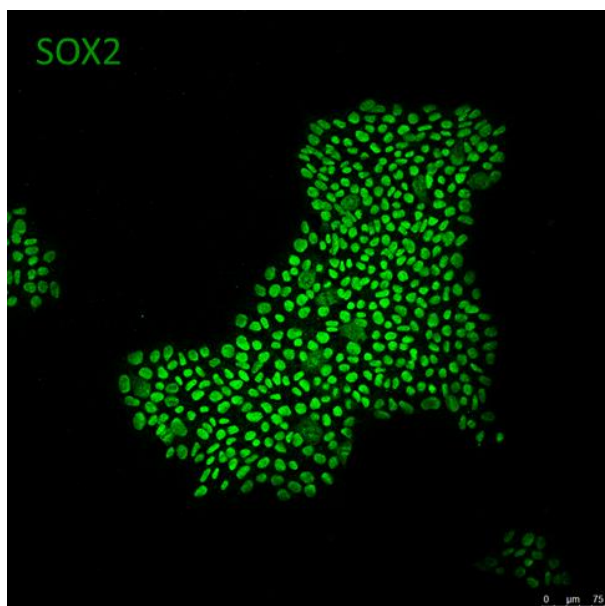
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



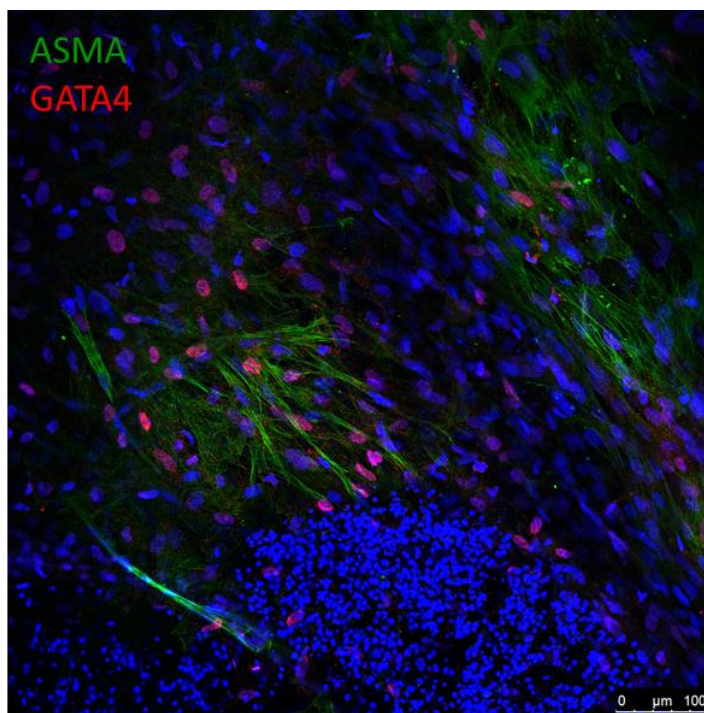
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

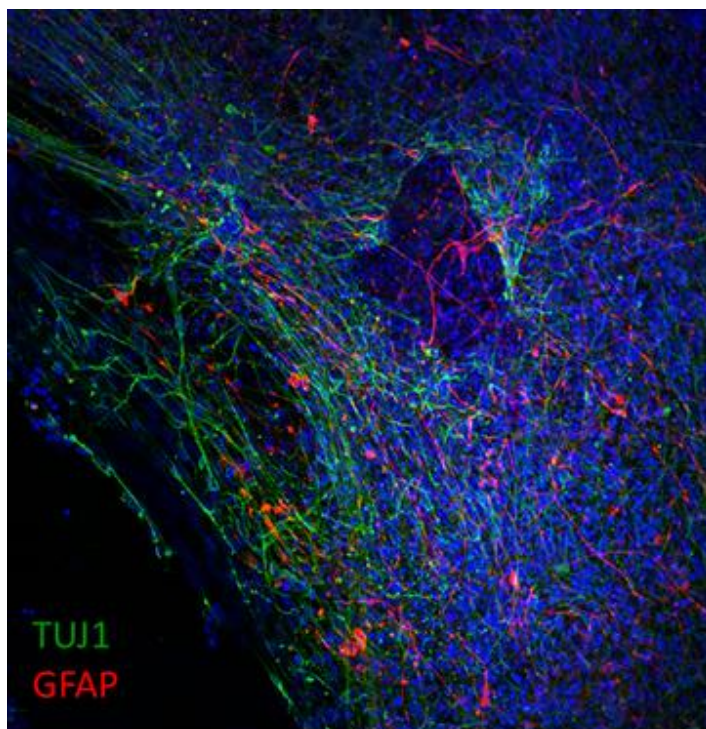


Anexo 2

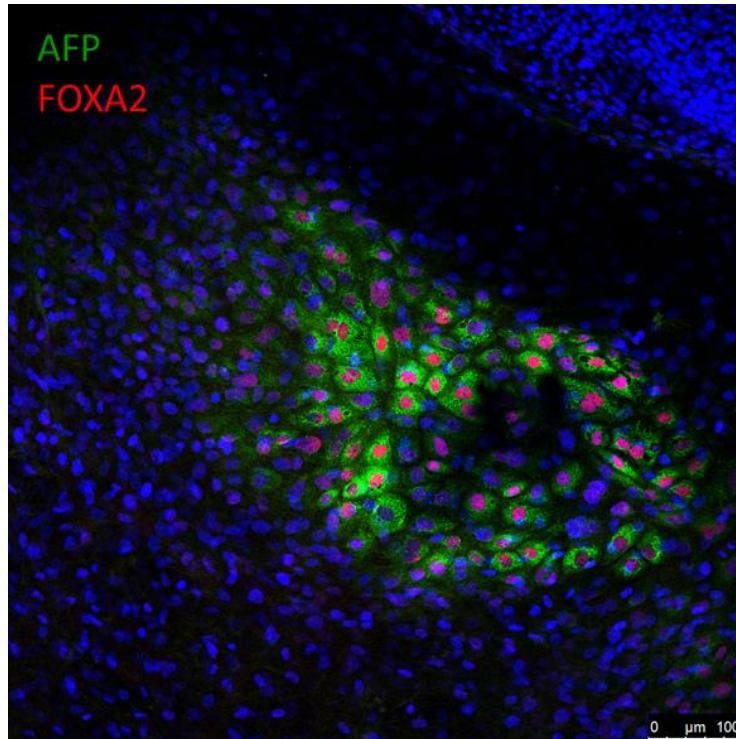
Diferenciación *in vitro*



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



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

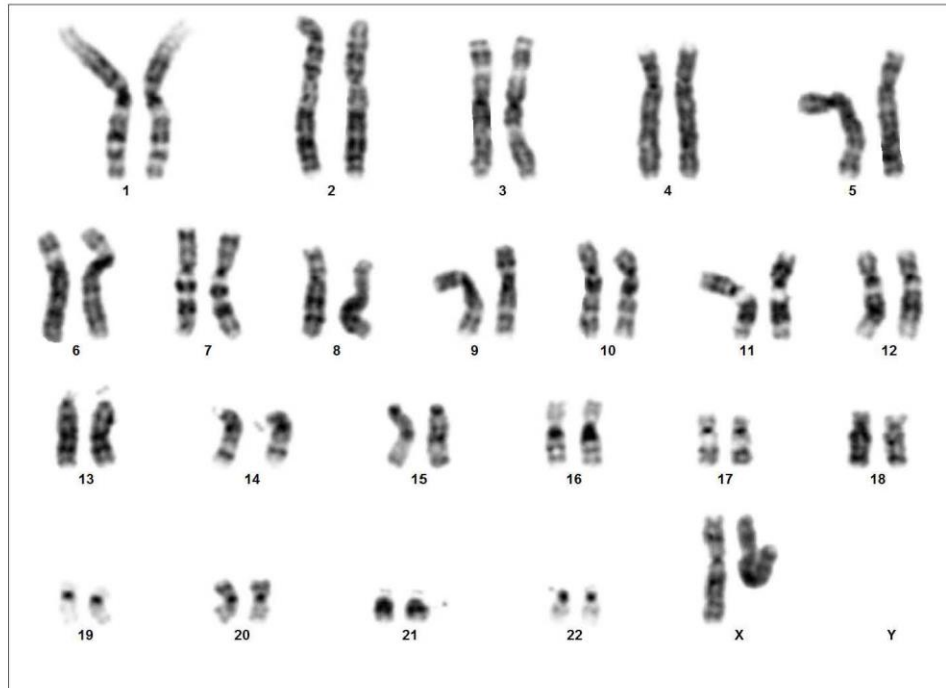
Case name: 11470925

NHC: CT0246

Nombre y Apellidos: HZ 1-8-3 CBiPS4-Sv4F-F6 p14

Servicio: IDIBELL

Tipo de muestra: CM



Case: 11470925 Slide: 1 Cell: 3

Resultado: 46,XX



Anexo 4

Resultado microsatélites

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
CD34 1/8/3 Sv inf F1e, 01.03.21	6; 9.3	28; 29	11; 12	12; 13	8; 9	10; 12	11; 12	X	16	8; 10

Barcelona, a 24 de marzo de 2021

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

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
Hz 1-8-3 CBiPS4-Sv4F-F6 p14	6; 9.3	28; 29	11; 12	12; 13	8; 9	10; 12	11; 12	X	16	8; 10

Barcelona, a 21 de septiembre de 2021

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en las células CD34+ de las que procede.



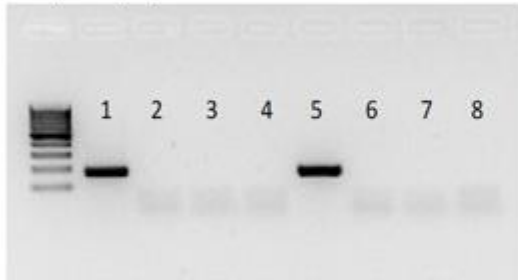
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

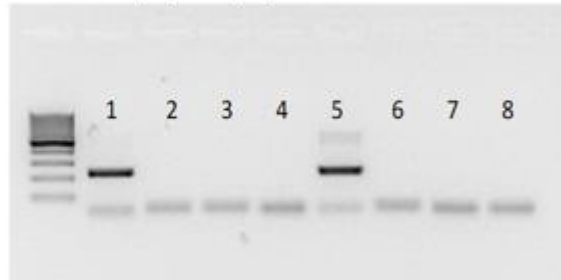
RT-PCR, iPS-PANIA 1-8-3
CTS Sendai 2.1

13.05.2021

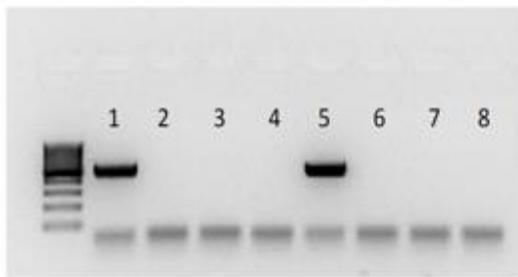
Sev (181 pb)



L- Myc (237 pb)



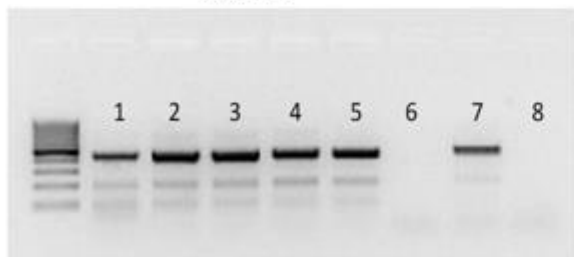
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



1. Control + SENDAI 2.1
2. Hz-1-8-3 CBiPS4 Sv4F #F6, P11, 26.04.21
3. Hz-1-8-3 CBiPS4 Sv4F #F8, P8, 19.04.21
4. Hz-1-8-3 CBiPS4 Sv4F #F10, P10, 03.05.21
5. CD34 1-8-3, Sv-Inf, F1e, 01.03.21
6. Sample NO RT
7. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE)
8. H2O

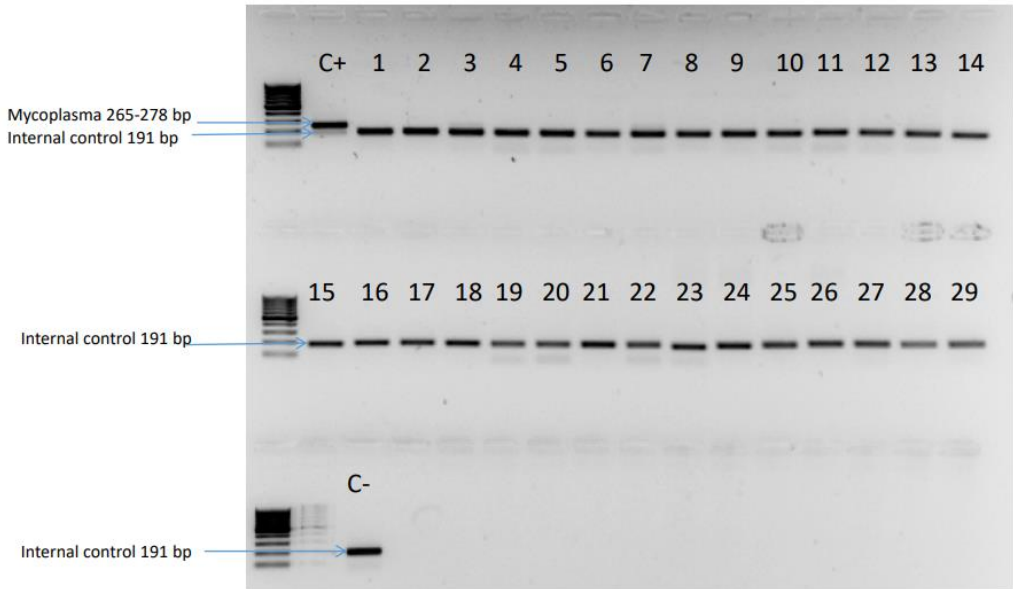
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 10/03/2021



1. BK1: CD34 IPS3 Sv4F E2, P3
2. BK2: CD34 IPS3 Sv4F E3, P3
3. BK3: CD34 IPS3 Sv4F E7, P4
4. BK4: CD34 IPS3 Sv4F E6, P4
5. BK5: CD34 IPS3 Sv4F E11, P3
6. BK 6: CD34 IPS3 Sv4F E8, P4
7. BK 7: CD34 IPS3 Sv4F E9, P4
8. BK 8: CD34 IPS3 Sv4F E4, P4
9. BK 9: CD34 IPS3 Sv4F E1, P3
10. BK 10: CD34 IPS3 Sv4F E13, P2
11. BK 11: CD34 IPS4 Sv4F F2, P2
12. BK 12: CD34 IPS4 Sv4F F4, P2
13. BK 13: CD34 IPS4 Sv4F F6, P2
14. BK 14: CD34 IPS4 Sv4F F7, P2
15. BK 15: CD34 IPS4 Sv4F F8, P2
16. BK 16: CD34 IPS4 Sv4F F5, P2
17. BK 17: CD34 IPS4 Sv4F F12, P1
18. BK 18: CD34 IPS4 Sv4F F11, P1
19. BK 19: CD34 IPS4 Sv4F F1, P2
20. BK 20: CD34 IPS4 Sv4F F3, P2
21. BK 21: CD34 IPS4 Sv4F F10, P2
22. BK 22: CD34 IPS4 Sv4F F9, P2
23. BK 23: Fb SC-PT4, P6
24. BK 24: Fb SC-PT4, P7
25. BK 25: Fb SC-PT8 Nuc
26. BK 26: Fb SC-PT9, P4
27. -SPG FIPS1-Ep6F-4 p11
28. -SPG FIPS2-Ep6F-8 p11
29. -CD34 IPS2-Sv4F-D10 p17

P-CMR[C]

La muestra nº13: CD34 iPS4 Sv4F F6, corresponde a la línea Hz 1-8-3 CBiPS4-Sv4F-F6.