

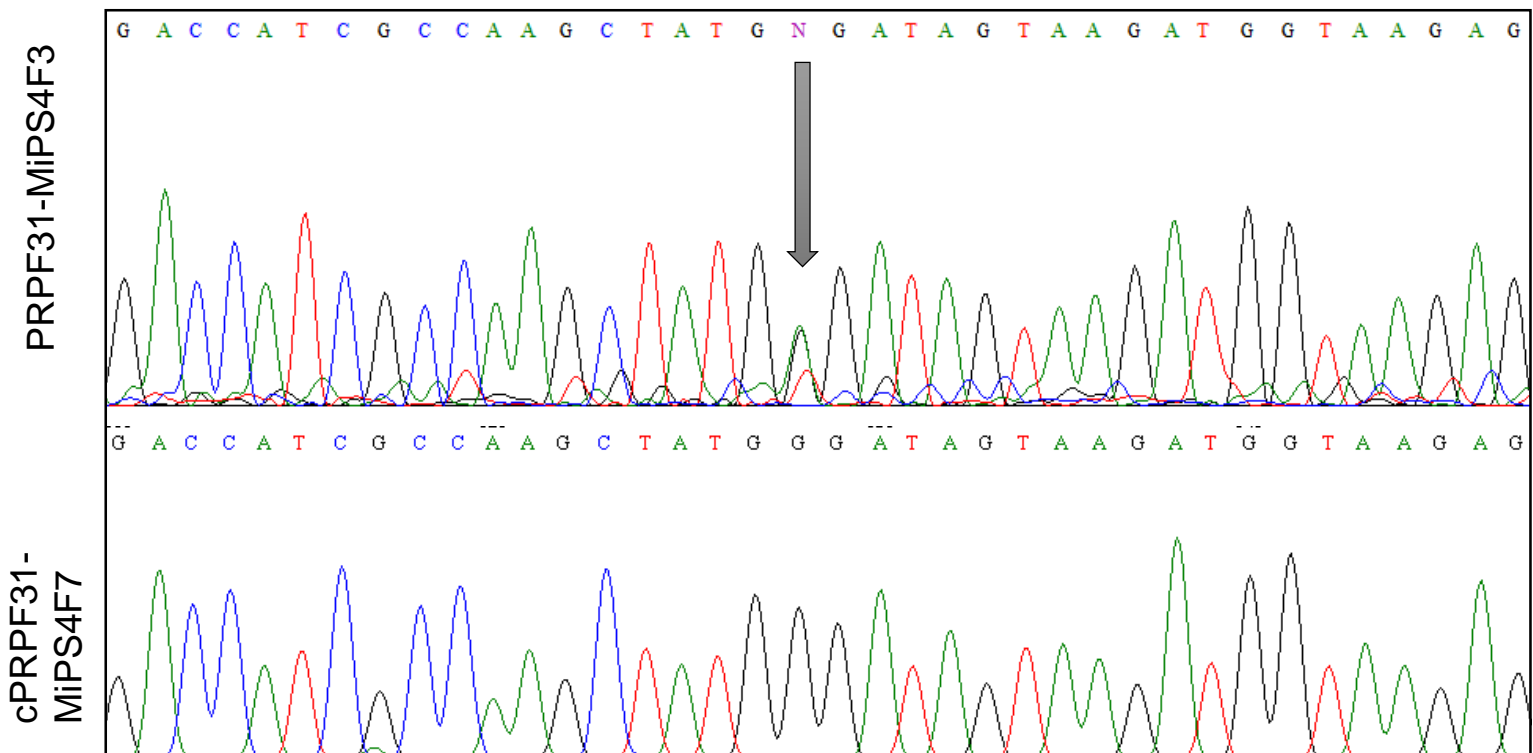
ANEXO 1

Secuencia de cPRPF31-MiPS4F7 en la región de la mutación presente en la familia del donante sano.

Sequence of the genomic region affected in the family of the healthy donor.

La flecha indica el sitio de la mutación A/G que causa un codón stop en la familia del donante. Se muestra la secuencia de la línea celular PRPF31-MiPS4F3, procedente de un miembro afectado de dicha familia con la mutación en heterocigosis. cPRPF31-MiPS4F7 la versión silvestre de la secuencia presenta en homocigosis.

Arrow indicates the point mutation A/G producing a stop codon. PRPF31-MiPS4F3, from an affected family member, is heterozygote for the mutation and cPRPF31-MiPS4F7 is homozygous for wild type sequence.



PRPF31-MiPS4F3:

GGGGATTTCAGTCAAGACCATCGCCAAGCTATG**A**GATAGTAAGATGgtaagaggacaa
gaggtgttcctagcagggggctctag

cPRPF31-MiPS4F7 :

GGGGATTTCAGTCAAGACCATCGCCAAGCTATG**G**GATAGTAAGATGgtaagaggacaa
gaggtgttcctagcagggggctctag

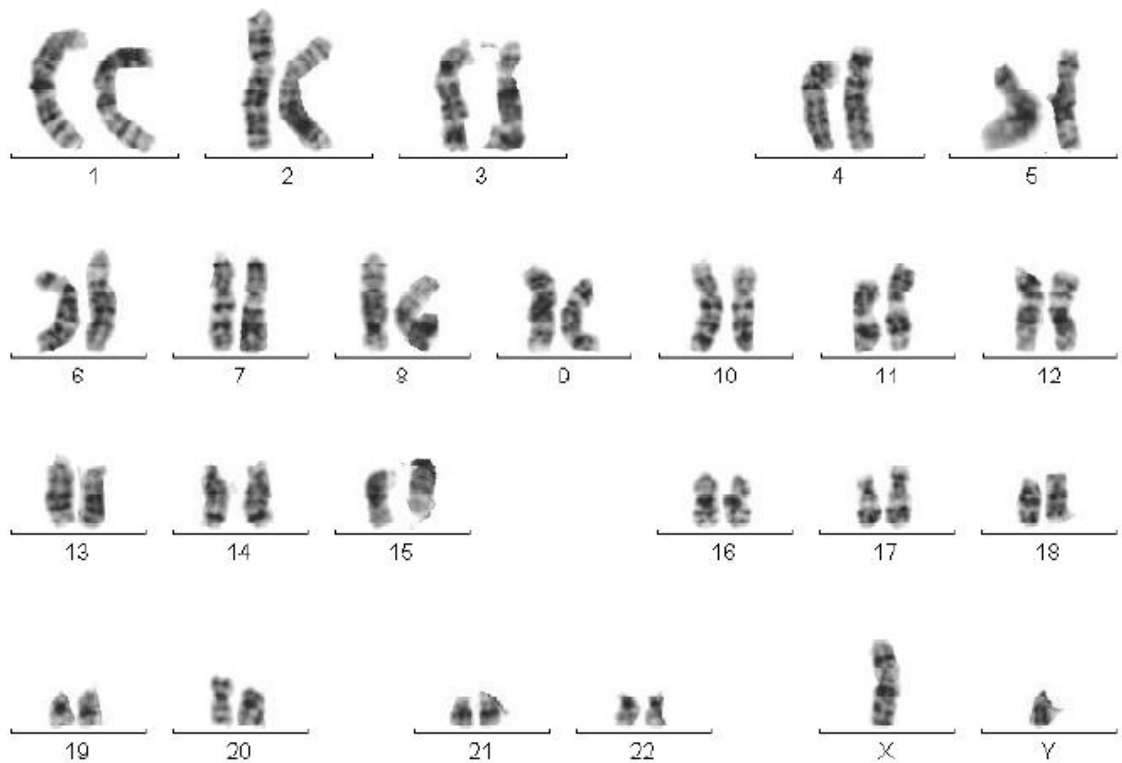
ANEXO 2

Cariotipo/bandeo G

Caryotype/ G-banding

Trabajo realizado por el Biobanco de SSPA, centro de Granada, a partir de una muestra de células adaptadas a cultivo sin feeders.

Results provided by SSPA Biobanc of Granada, from a sample of the iPSC line adapted to grow without feeders.



Cariotipo: 46,XY

Diagnóstico citogenético: Línea celular compatible con un cariotipo masculino normal.

Cytogenetic diagnostic:

Cell line compatible with a normal male caryotype.

ANEXO 3
Análisis STR

Fingerprint analysis

Trabajo realizado en el Biobanco del SSPA, centro de Granada, a partir de muestras de ADN genómico de la línea cPRPF31-MiPS4F7 y de las células primarias (PBMCs).

Results provided by the SSPA Biobanc of Granada from genomic DNA sample from both primary cells (PBMCs) and cPRPF31-MiPS4F7 .

	PBMCs	cPRPF31-MiPS4F7
AMEL	X,Y	X,Y
CSF1PO	8, 11	8, 11
D5S818	11	11
D13S317	8, 11	8, 11
D21S11	30, 33.2	30, 33.2
D16S539	9, 13	9, 13
D7S820	9, 11	9, 11
TH01	7, 9.3	7, 9.3
TPOX	8, 11	8, 11
vWA	16, 18	16, 18

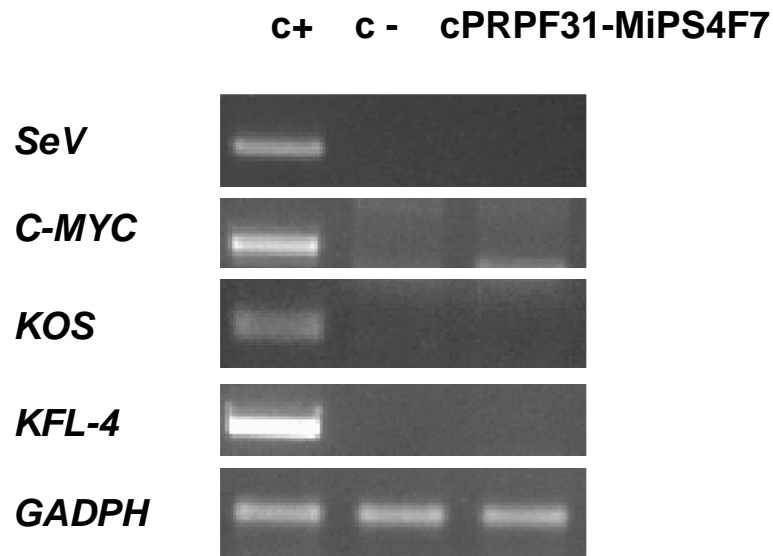
ANEXO 4

Análisis silenciamiento

Viral silencing analysis

Se realiza rtPCR para detectar factores de reprogramación ectópicos y gen que codifica la cápsida del virus. c+ es cPRPF31-MiPS4F7 en pase 1, c- es una muestra de las células primarias (PBMCs), en el tercer carril se muestra el silenciamiento del virus en la línea cPRPF31-MiPS4F7 en pase 6.

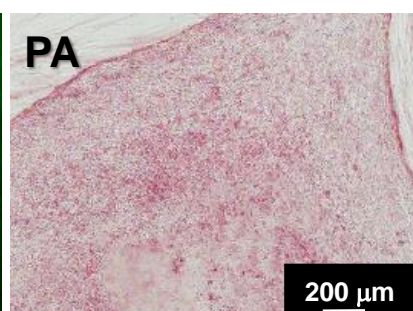
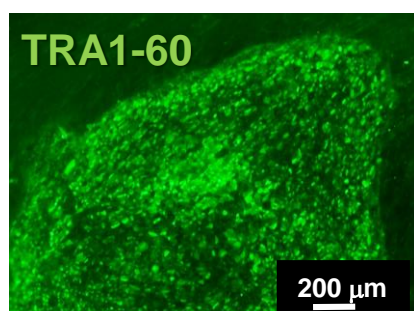
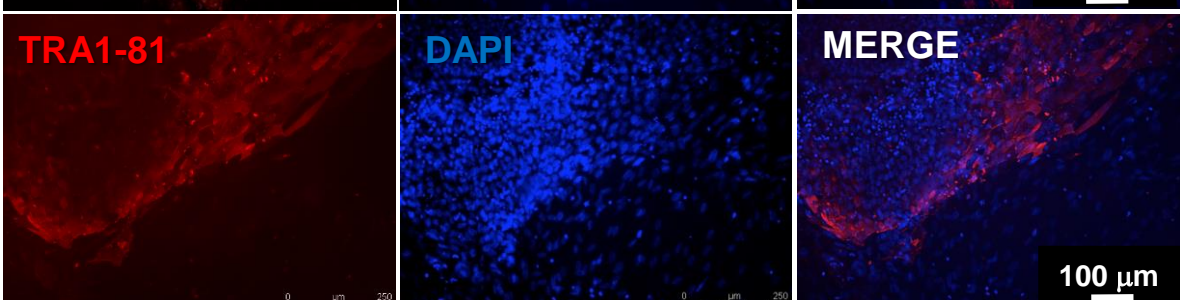
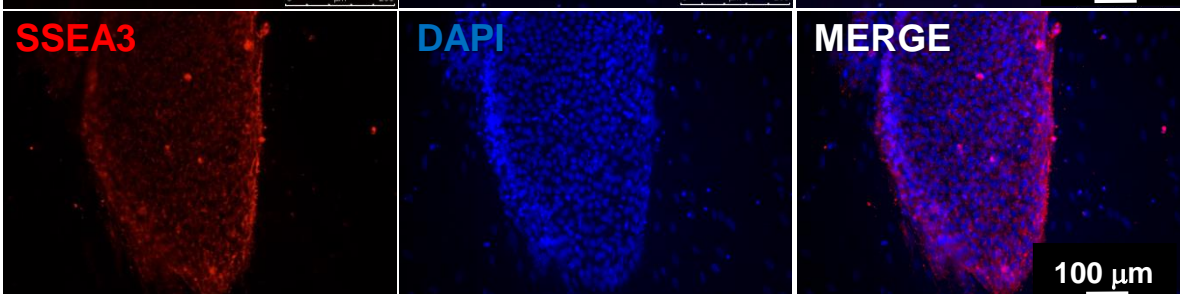
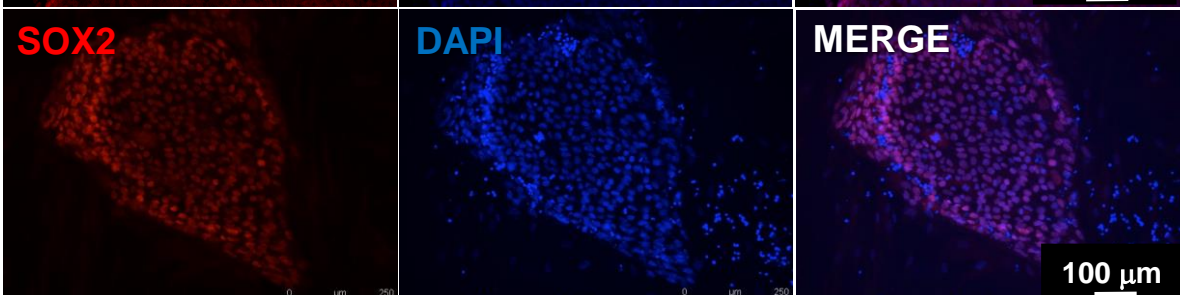
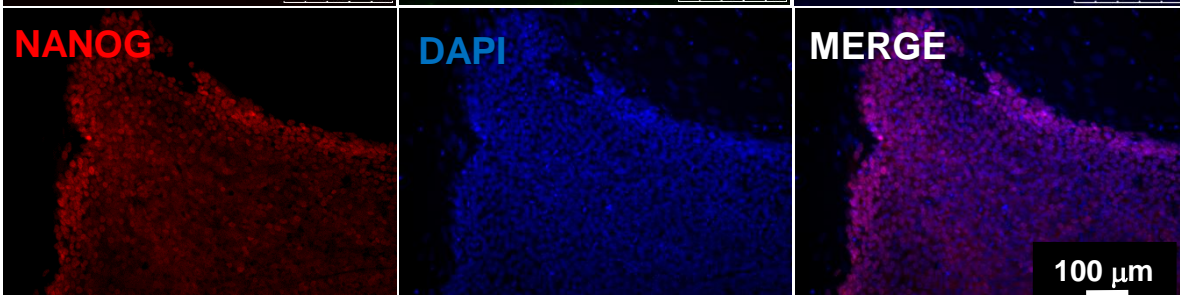
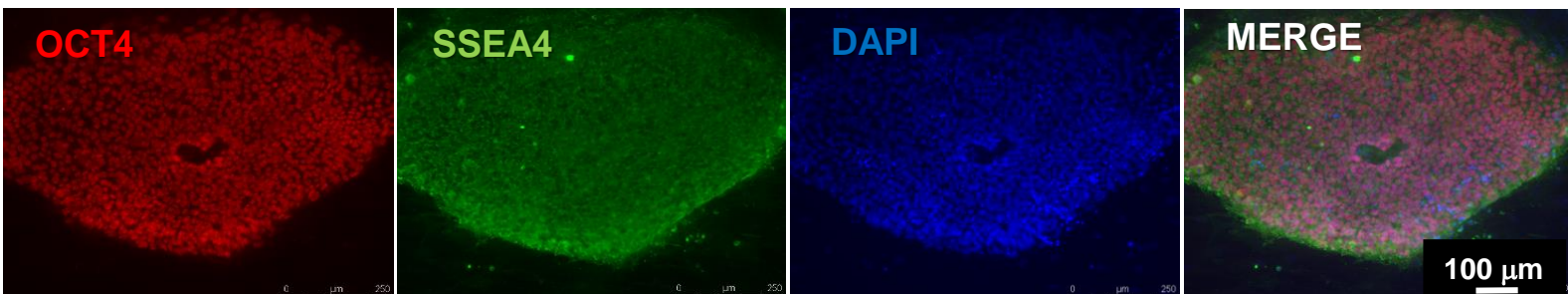
rtPCR to detect ectopic reprogramming factors and capsid gene. c+ is cPRPF31-MiPS4F7 at passage 1 and c- is a primary cell sample (PBMCs). the third lane shows the silencing of the virus in the cPRPF31-MiPS4F7 line at passage 6.



ANEXO 5

Caracterización de pluripotencia por inmunofluorescencia y test fosfatasa alcalina (PA).

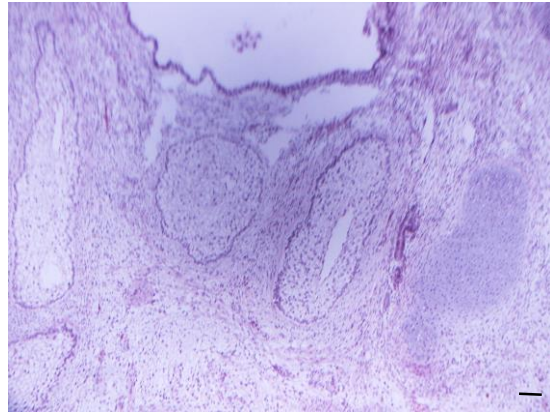
Pluripotency characterization, IF and alkaline phosphatase test (PA).



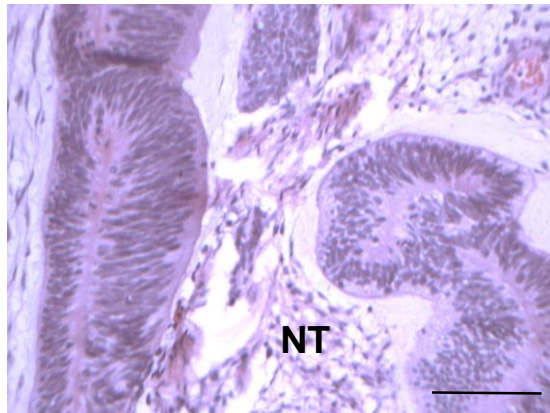
ANEXO 6

Análisis de teratoma Hematoxilina/eosina

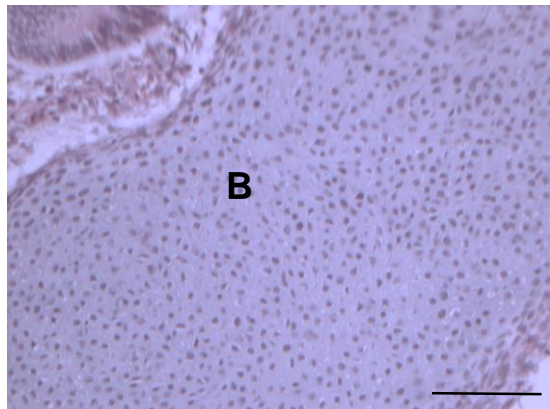
Teratome analysis: haematoxilin/eosin.



Teratome



Ectoderm



Mesoderm



Endoderm

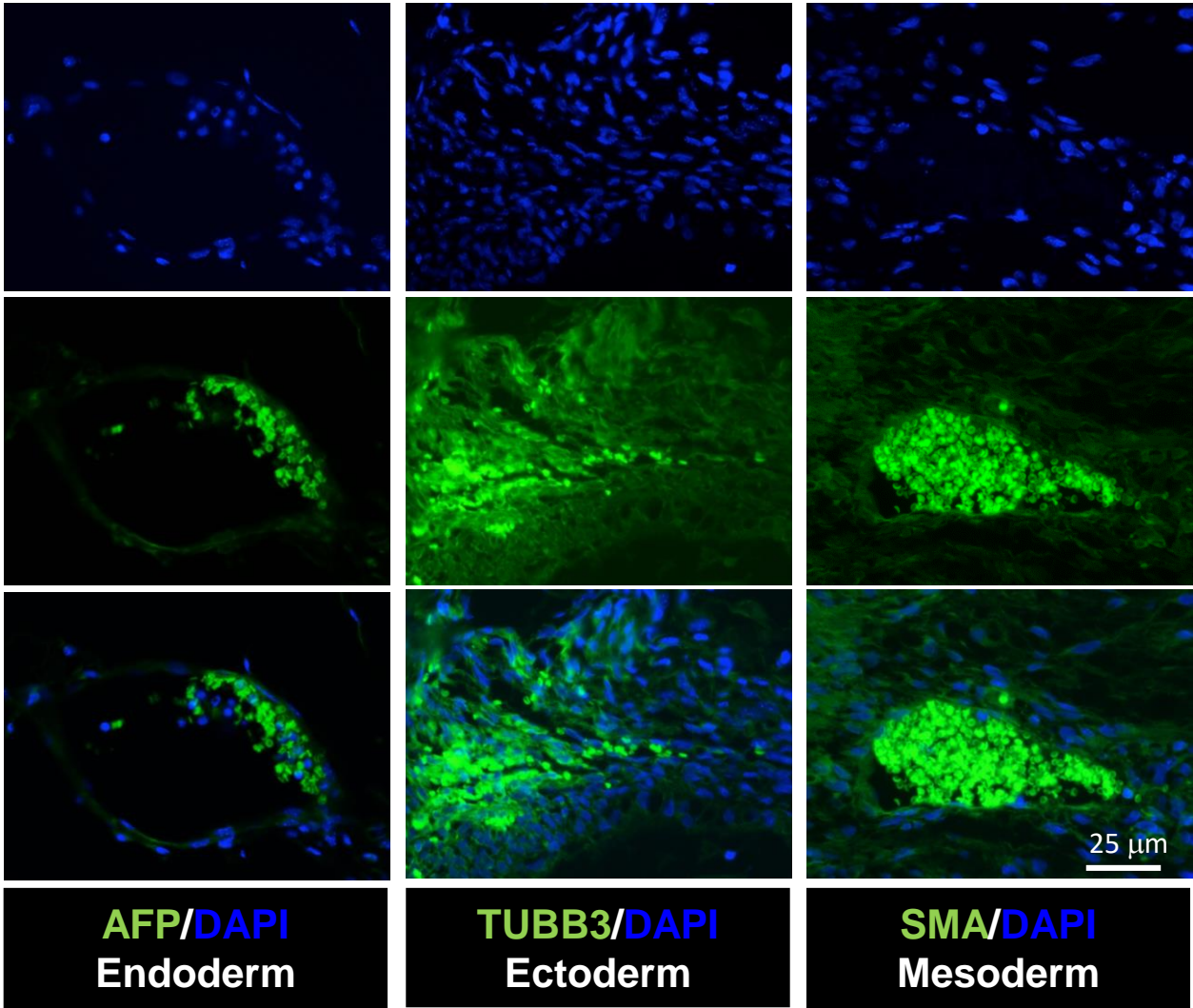
G, gut-like; B, bone; NT, Neural tissue; Scale is 50 mm.

ANEXO 7

Análisis de teratoma: Inmunofluorescencia de marcadores de las tres capas embrionarias.

AFP, alpha fetoprotein; TUBB3, neuron-specific class III b-tubulin; SMA, smooth muscle actin.

Teratome analysis: IF of one marker of each germ layer.

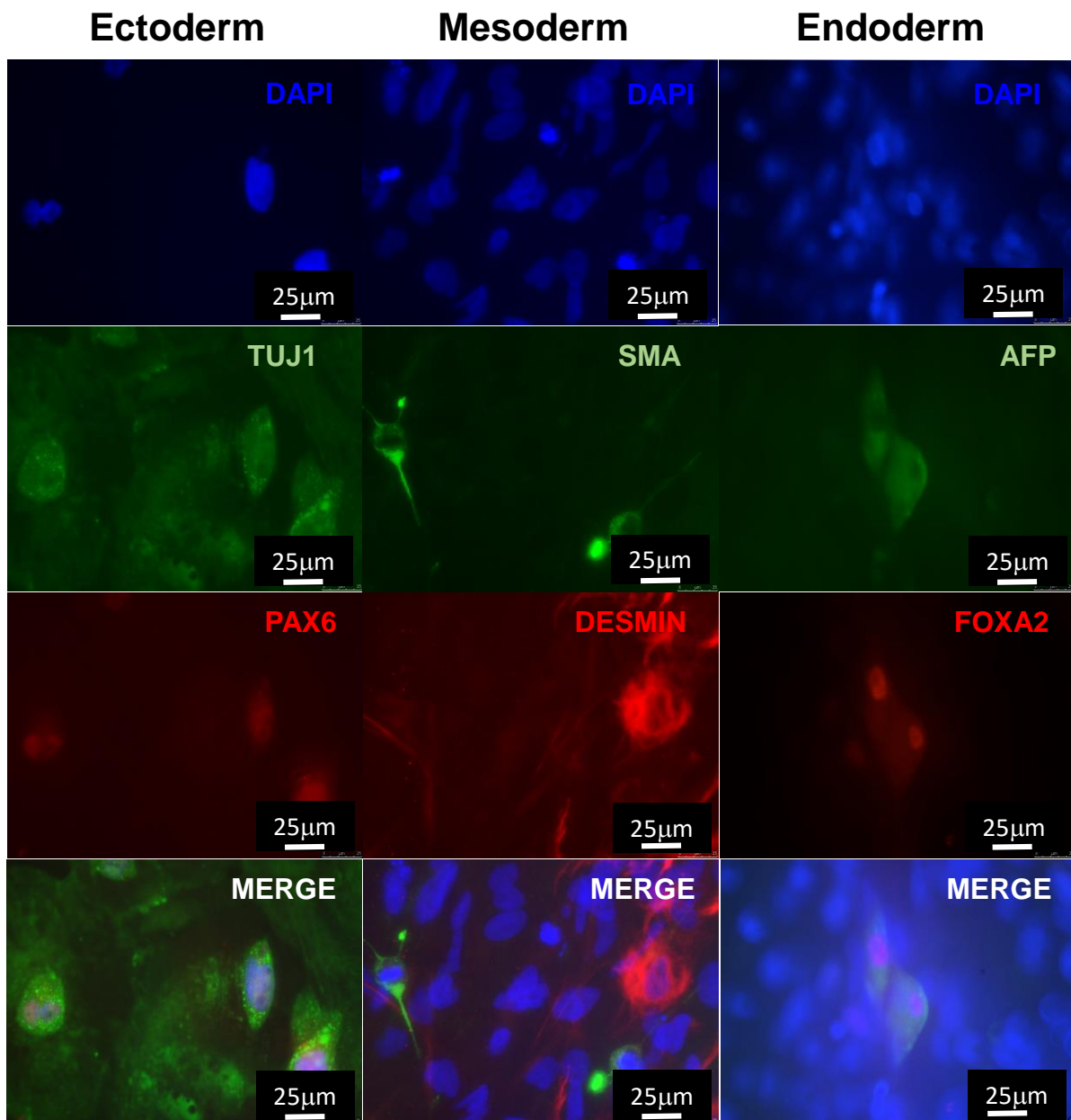


ANEXO 8

Diferenciación *in vitro*: inmunofluorescencia de marcadores de las tres capas embrionarias en cuerpos embrionarios diferenciados a partir de cPRPF31-MiPS4F7 .

In vitro differentiation: IF of markers of thre germ layers in embryoid body generated from cPRPF31-MiPS4F7.

AFP, alpha fetoprotein; Tuj1, neuron-specific class III b-tubulin; SMA, smooth muscle actin; FOXA2, Forkhead Box A2; PAX6, Paired Box 6



ANEXO 9 Control Micoplasma

Mycotest realizado para varias muestras con dos controles positivos (c+1; c+2). La ausencia de amplificación de ADN a 500 pb indica ausencia de micoplasma en el medio de cultivo de todas las muestras analizadas, entre las que se encuentra cPRPF31-MiPS4F7 (s1).

Mycotest using PCR amplification for several iPS samples indicates absence of micoplasm contamination in the culture media of all of them, including cPRPF31-MiPS4F7 (s1). c+1 and c+2 are two positive controls showing amplification at 500 bp.

