

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [TSD]FiPS-4F-3-1 EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES.

ANEXOS

Anexo 1: Resultado Test de micoplasma (PCR) [TSD]FiPS-4F-3-1

Anexo 2: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia [TSD]FiPS-4F-3-1

Anexo 3: Cariotipo [TSD]FiPS-4F-3-1

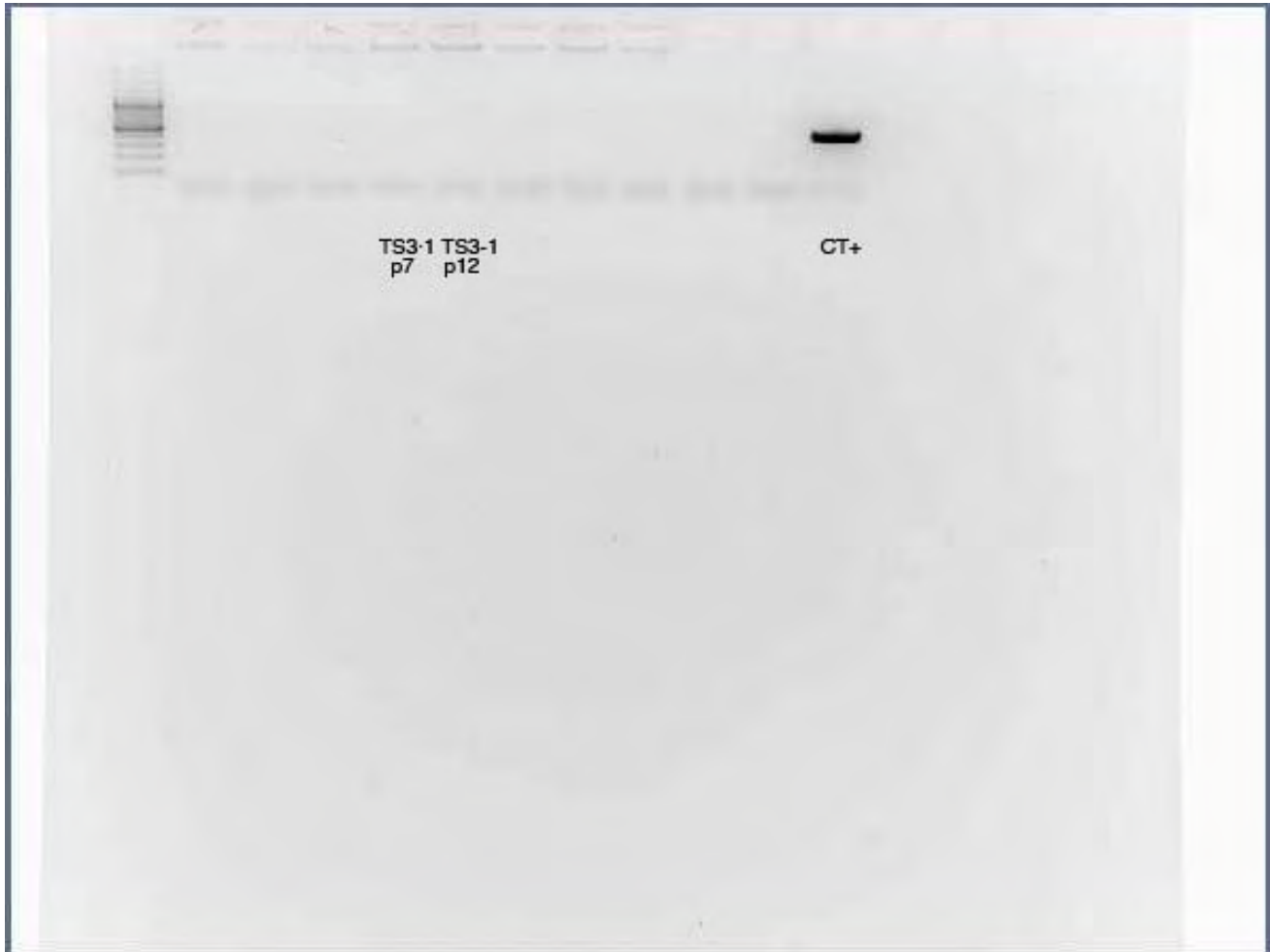
Anexo 4: Diferenciación *in vitro* [TSD]FiPS-4F-3-1

Anexo 5: Diferenciación *in vivo* [TSD]FiPS-4F-3-1

Anexo 6: Genotipación de los fibroblastos originales Coriell; GM00527 y [TSD]FiPS-4F-3-1

Anexo 1

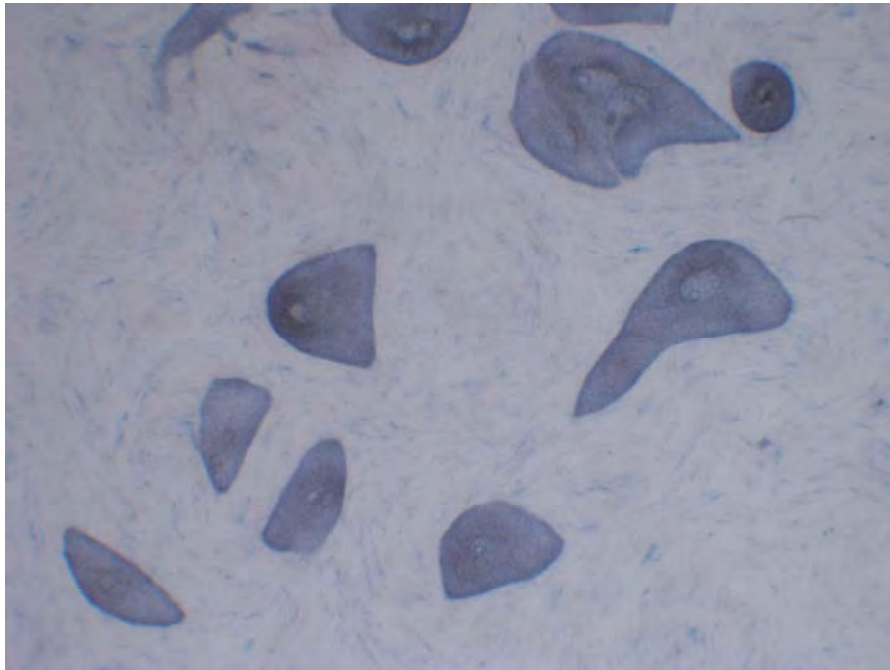
Resultado Test de micoplasma (PCR)



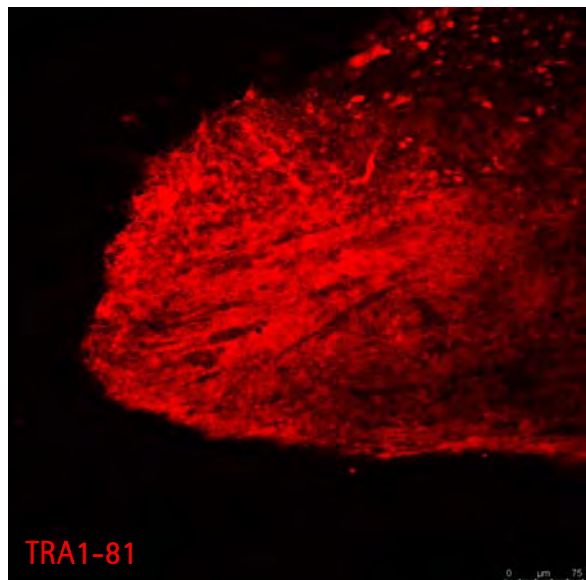
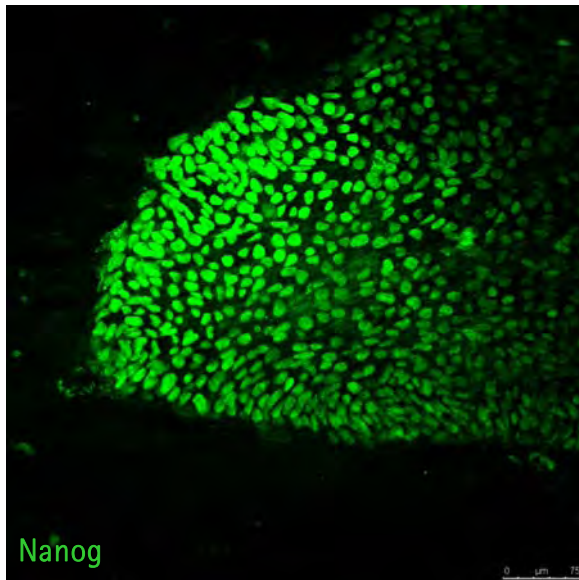
-Resultado test micoplasma [TSD]FiPS-4F-3-1 pase 7 y pase12 postcre: Negativo

Anexo 2

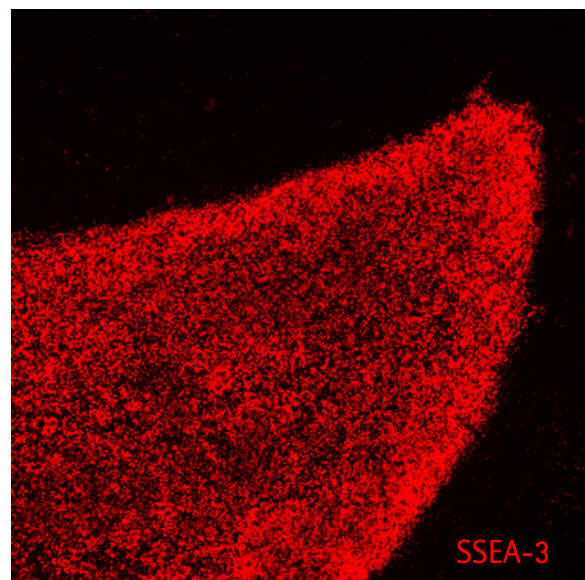
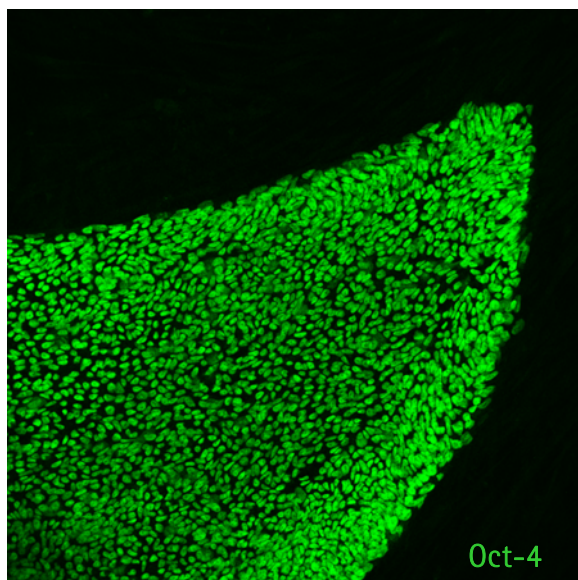
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia [TSD]FiPS-4F-3-1



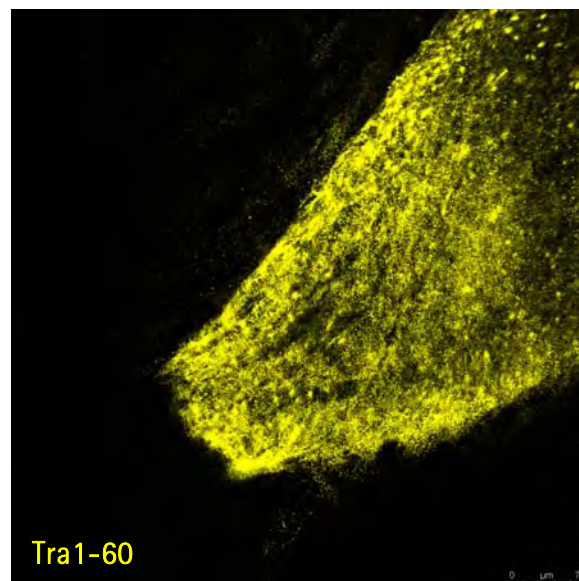
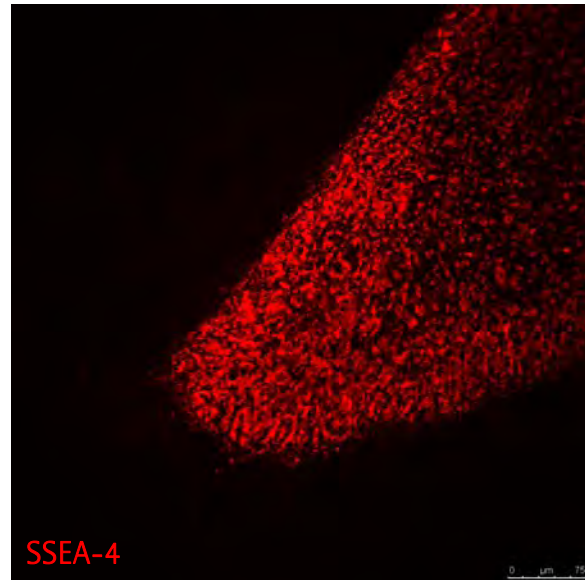
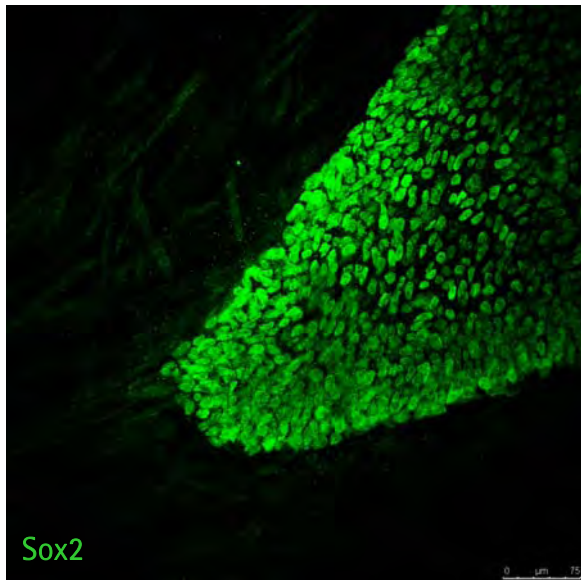
Actividad fosfatasa alcalina de la línea de células pluripotentes [TSD]FiPS-4F-3-1



Immuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [TSD]FiPS-4F-3-1 para Nanog y TRA1-81



Immuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [TSD]FiPS-4F-3-1 para Oct-4



Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes [TSD]FiPS-4F-3-1 para Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 3
Cariotipo [TSD]FiPS-4F-3-1

Nombre muestra: **TS FiPS-4F-3-1**

Fecha: Barcelona, 21/11/2013

ESTUDIO CITOGENÉTICO

El resultado obtenido en el estudio citogenético realizado en la muestra **TS FiPS-4F-3-1** es:

-Resultado citogenético: 46, XY

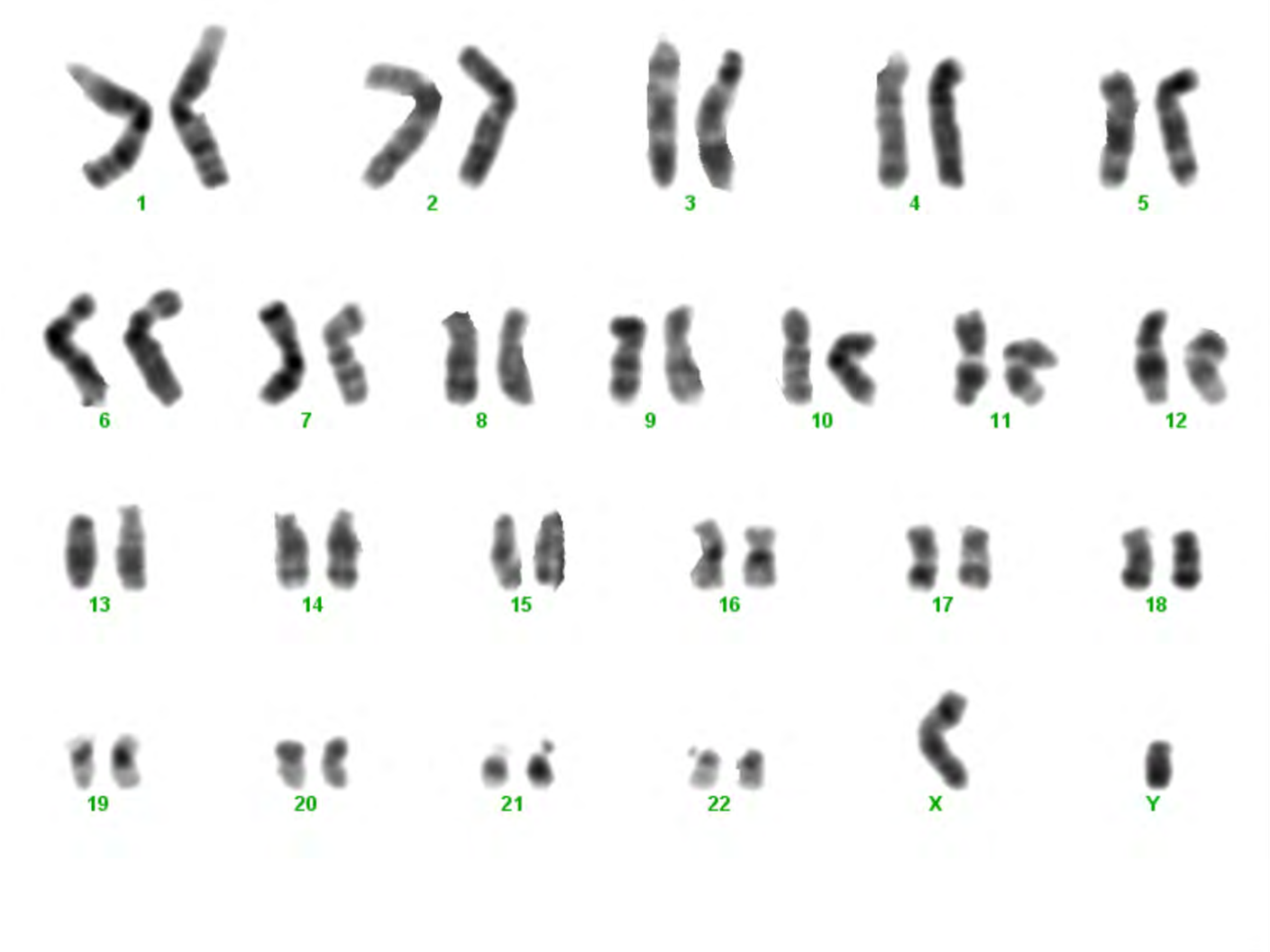
Se han estudiado un total de **20 metafases** procedentes de cultivos celulares de la muestra.

Observaciones:

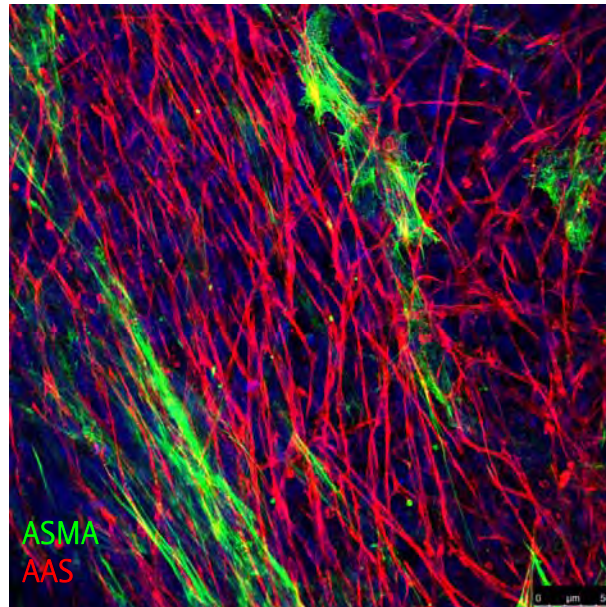
El resultado citogenético no excluye la presencia de anomalías no detectables debido a limitaciones propias de la técnica, como pueden ser: mosaicos de baja frecuencia y alteraciones estructurales de medida pequeña (microdeleciones y microduplicaciones).

Los estudios citogenéticos tienen una fiabilidad superior al 99%.

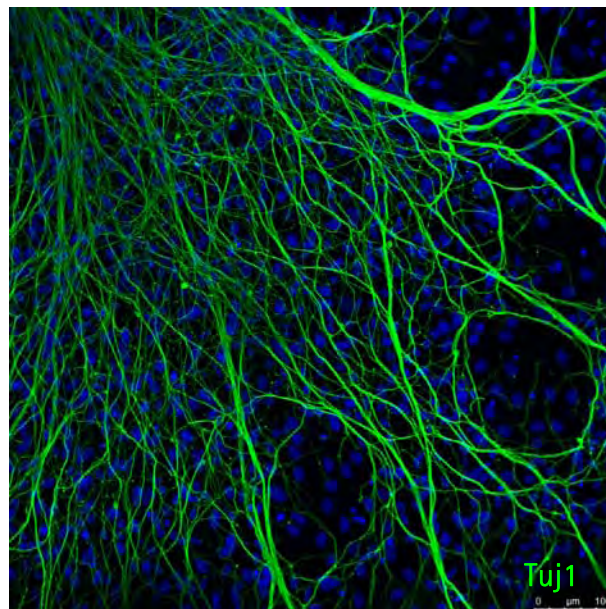
Dra. Cristina Gómez Santos



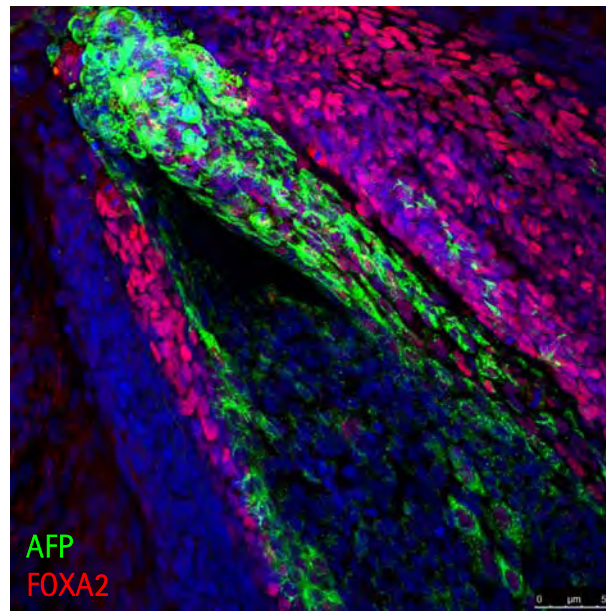
Anexo 4
Diferenciación *in vitro* [TSD]FiPS-4F-3-1



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



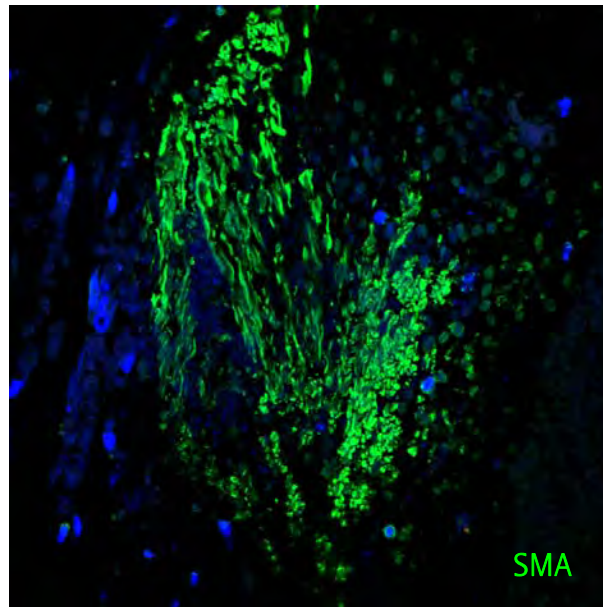
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para Tuj1



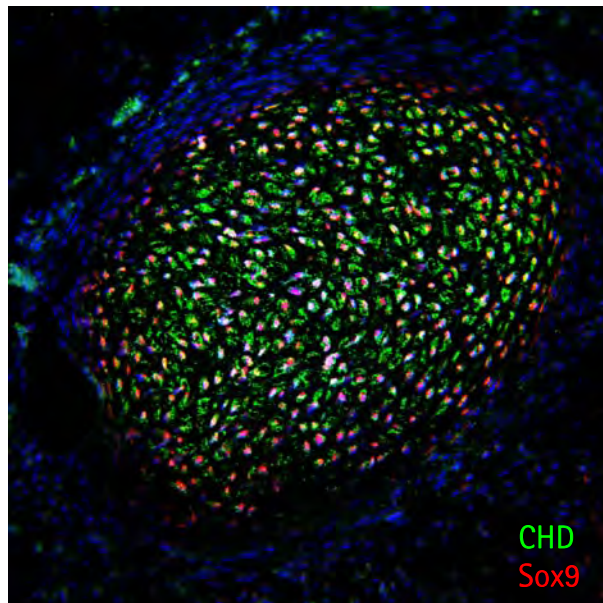
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para AFP y FOXA2

Anexo 5

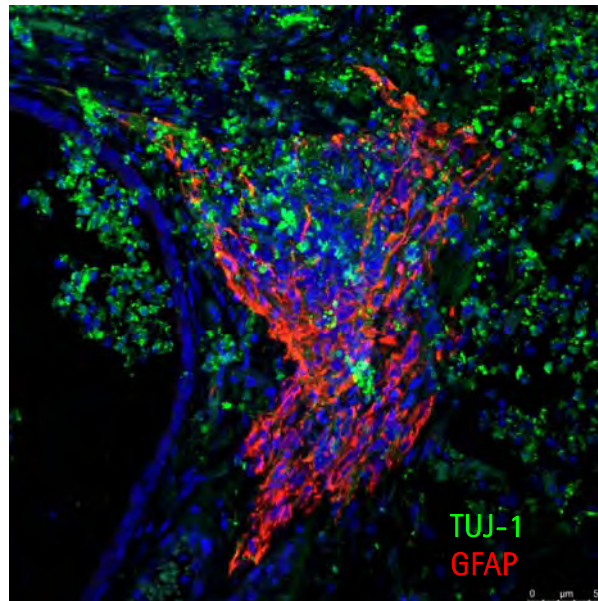
Diferenciación *in vivo* [TSD]FiPS-4F-3-1



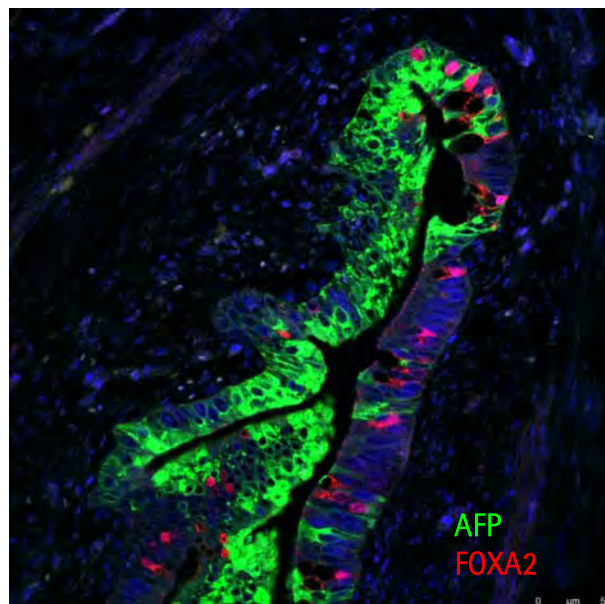
Diferenciación *in vivo* a mesodermo: Células positivas para SMA



Diferenciación *in vivo* a mesodermo: Células positivas para CHD (chondroitin sulfato) y Sox9



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



Diferenciación *in vivo* a endodermo: Células positivas para AFPy FOXA2

Anexo 6

Genotipación de los fibroblastos originales Coriell; GM00527 y [TSD]FiPS-4F-3-1

TAY-SACHS FIBROBLASTS GENOTYPING

Sample: Fibroblast TSD, Coriell GM00527

HEXA gene Exon 11 WT

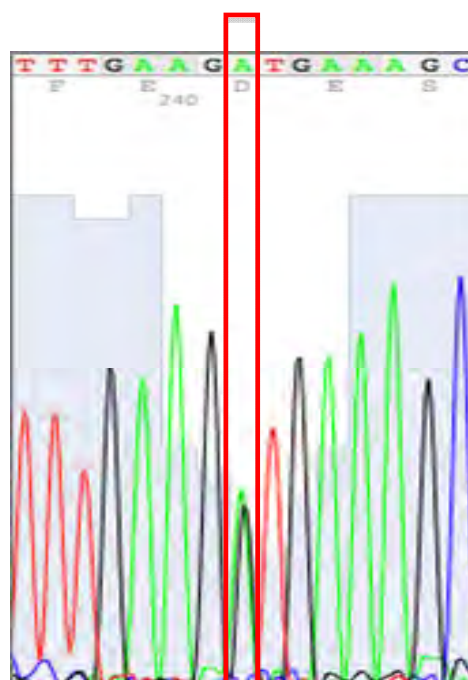
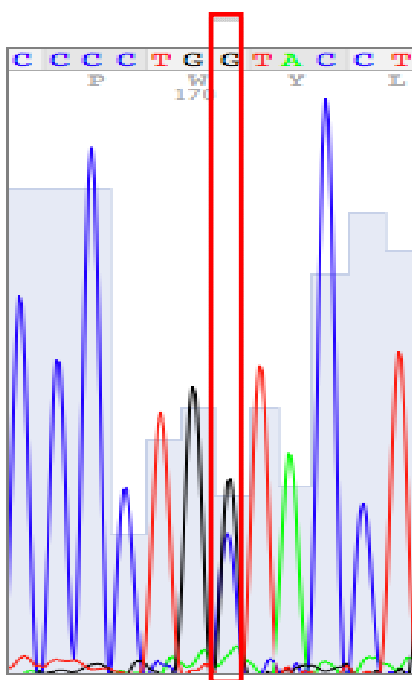
GCAAAAAGCCATCTCCTCAGCTTTGTGTCCTTACTGCCATTTGACCTTTTATAACAGAT
 TCAGCCAGACACAATCATAACAGGTGTGGCGAGAGGATATTCCAGTGAAGTATATGAAG
 GAGCTGGAAGTGGTCACCAAGGCCGGCTTCCGGGCCCTTCTCTCTGCCCCCTG**G**TACCT
 GAACCGTATATCCTATGGCCCTGACTGGAAGGATTTCTACGTAGTGGAAACCCCTGGCAT
 TTGAAG**G**TGAAAGCAGAGAGCTCTCCTTGCTAACCAAAGGAGGCTGGGTGGGGCACA
 GGATGGGAGGCAGGAAGGTCTGGGCCAGACATTTCCAGTTAGTAAATGAAACAACCTTA
 GCTGGGGTGAGGGCCACATGGGAGGGATTAGGAGGTACAAATCCGCAAAAACGGTG

HEXA gene Exon 11 TSD

GCAAAAAGCCATCTCCTCAGCTTTGTGTCCTTACTGCCATTTGACCTTTTATAACAGAT
 TCAGCCAGACACAATCATAACAGGTGTGGCGAGAGGATATTCCAGTGAAGTATATGAAG
 GAGCTGGAAGTGGTCACCAAGGCCGGCTTCCGGGCCCTTCTCTCTGCCCCCTG**G/C**TACC
 TGAACCGTATATCCTATGGCCCTGACTGGAAGGATTTCTACGTAGTGGAAACCCCTGGCA
 TTTGAAG**G/A**TGAAAGCAGAGAGCTCTCCTTGCTAACCAAAGGAGGCTGGGTGGGGC
 ACAGGATGGGAGGCAGGAAGGTCTGGGCCAGACATTTCCAGTTAGTAAATGAAACAAC
 TTAGCTGGGGTGAGGGCCACATGGGAGGGATTAGGAGGTACAAATCCGCAAAAACGGT
 G

Mutation 1: c.1260G>C

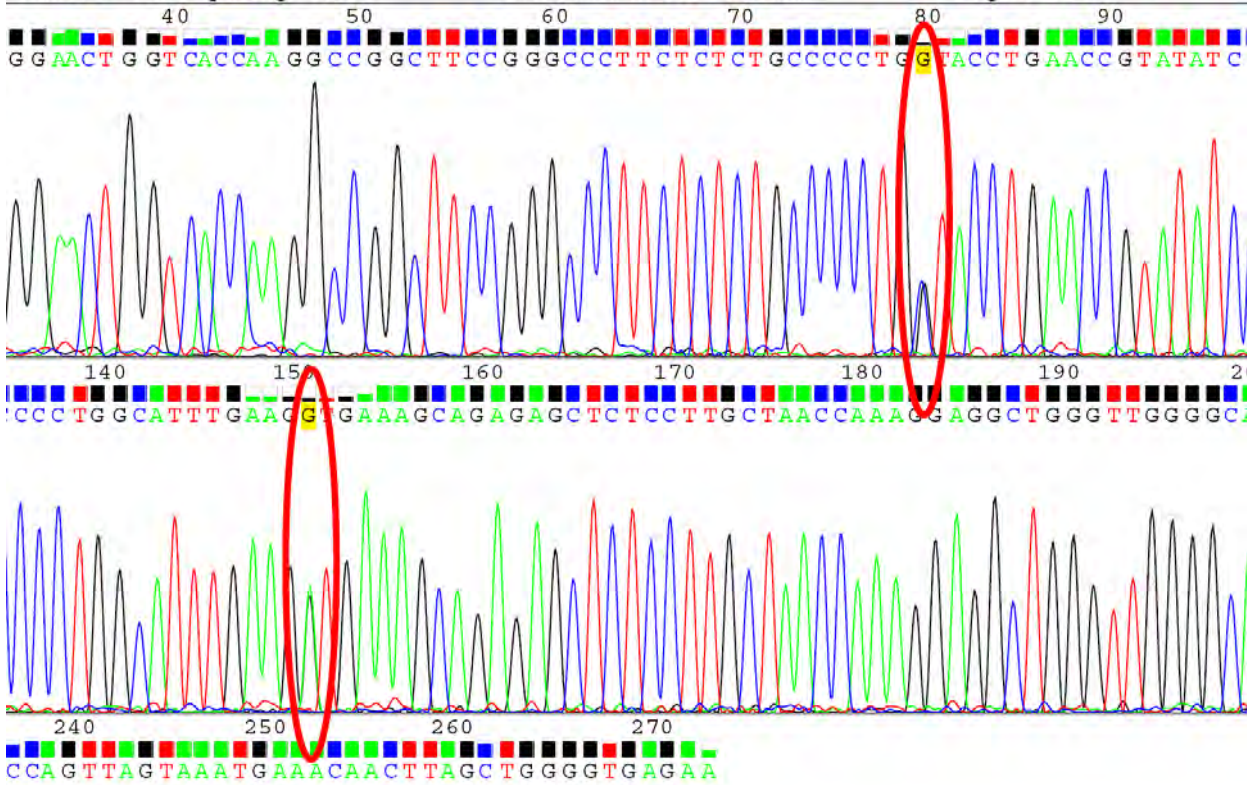
Mutation 2: c.1330+1 G>A



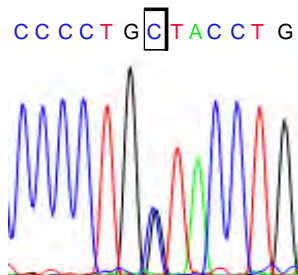
Result: Reverse sequencing. 2 heterozygotic mutations.

GENOTYPING [TSD]-FiPS-4F-3-1

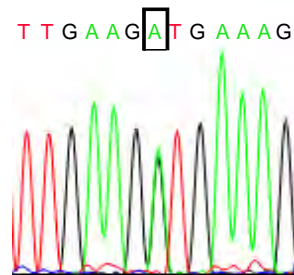
Run Ended: Dec 20, 2012, 12:37:57 Signal G:810 A:829 T:614 C:664 Comment:
Lane: 5 Base spacing -16.16 272 bases in 16301 scans Page 1 of 2



c.1260 G>C



IVS11+1 G>A



Result:

Compound heterozygote mutation c.1260G> C corresponding to aminoacidic change p.Trp420Cys.
And other allele mutation c.1330 +1 G> A corresponding to splicing IVS11 +1 G> A