

**ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR**  
**BST PBiPS6-SV4F-9**  
**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 de microsatélites

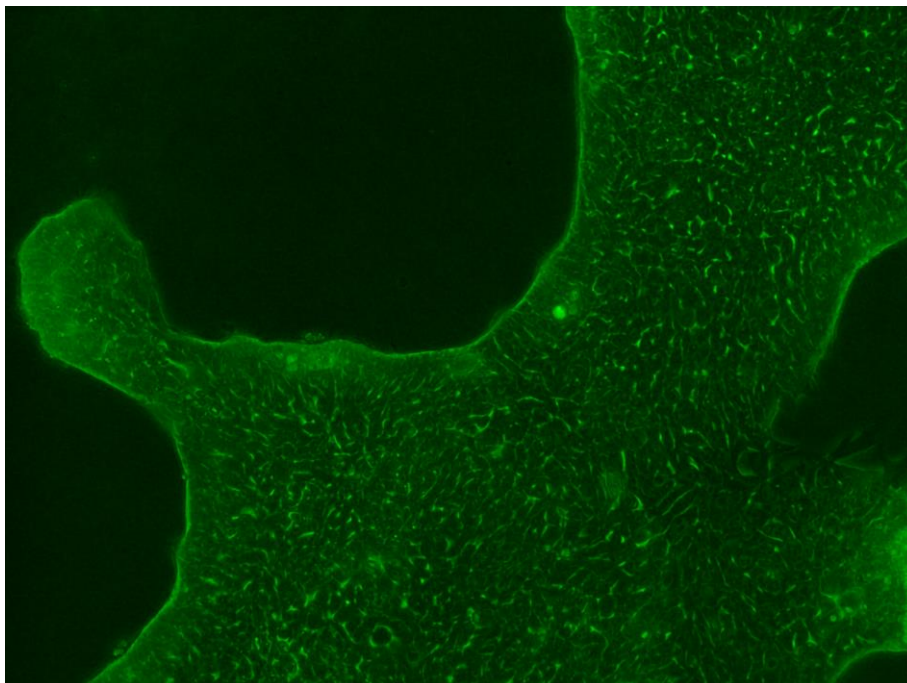
Anexo 6: Ausencia de transgenes de reprogramación

Anexo 7: Confirmación de la presencia de la mutación de la muestra  
origen

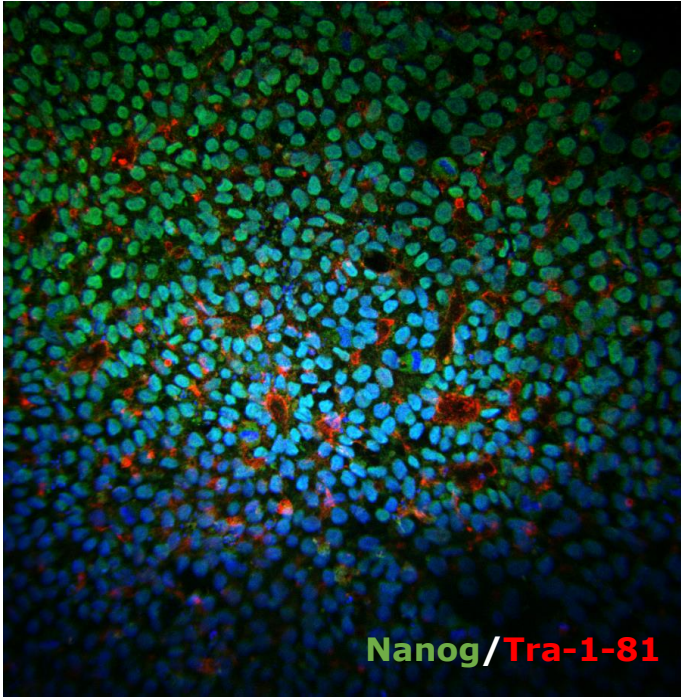
Anexo 8: Resultado test de micoplasma

## **Anexo 1**

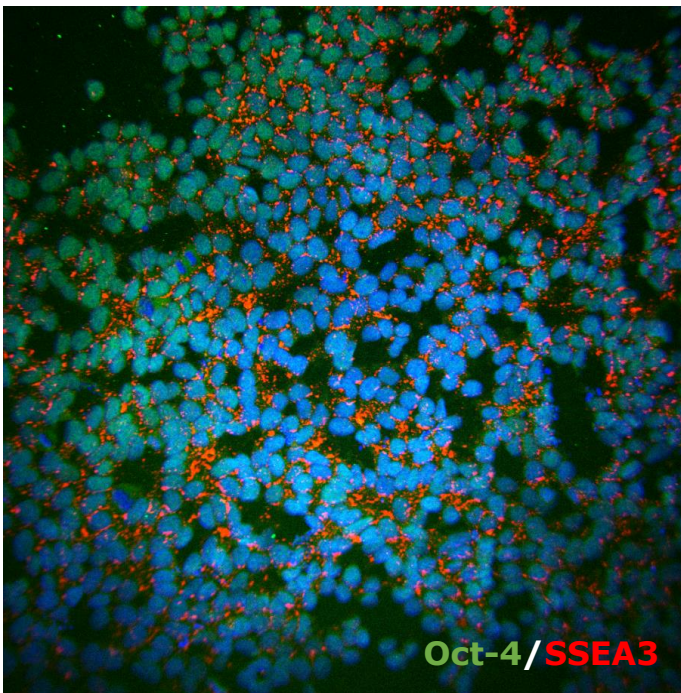
### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**



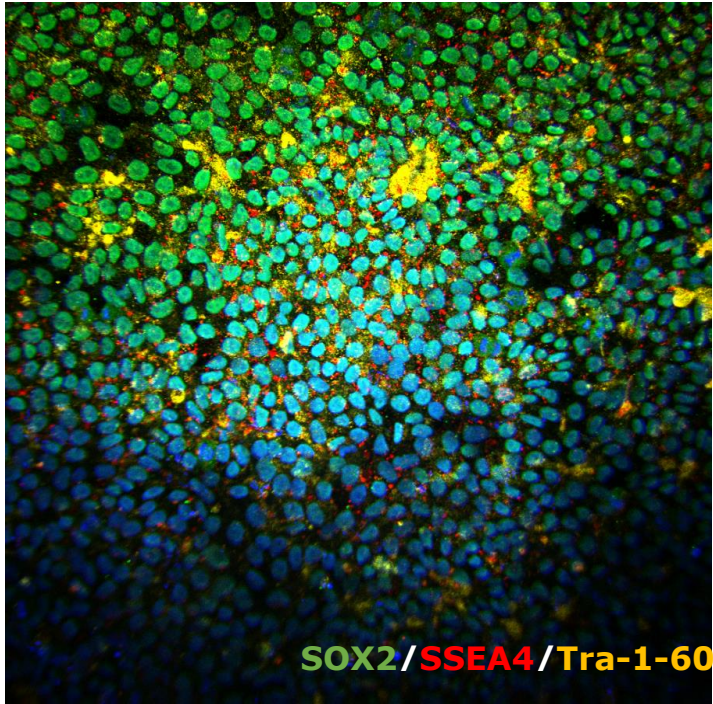
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



Resultado positivo por  
immunocitoquímica para las  
proteínas de pluripotencia  
**Nanog y Tra-1-81**



Resultado positivo por  
immunocitoquímica para las  
proteínas de pluripotencia  
**Oct-4 y SSEA3**

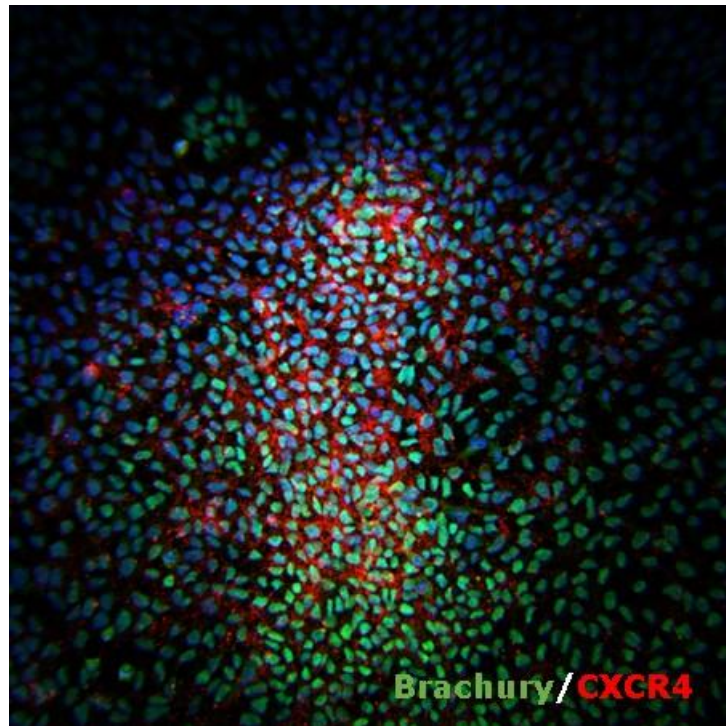


Resultado positivo por  
immunocitoquímica para las  
proteínas de pluripotencia  
**Sox2, SSEA4 y Tra-1-60**

## **Anexo 2**

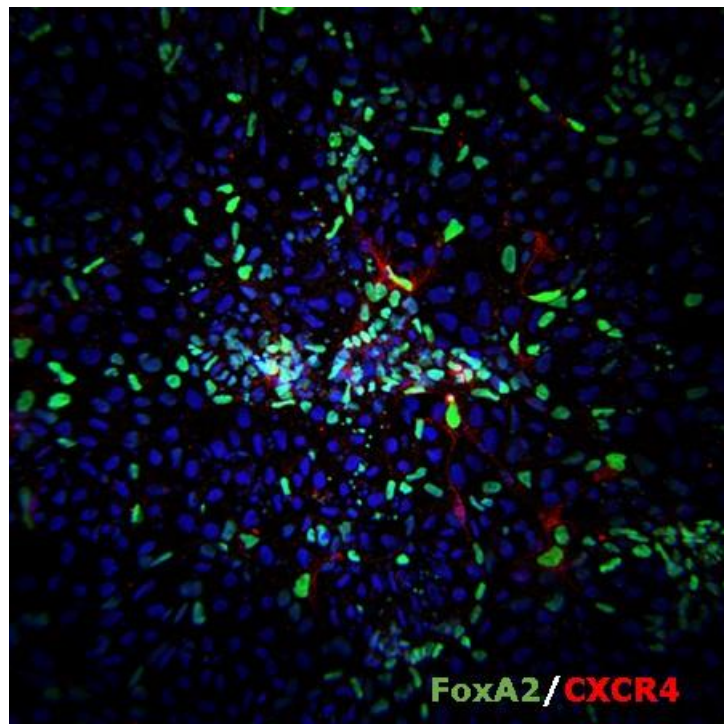
### **Diferenciación *in vitro***

Diferenciación *in vitro* a **mesodermo**



Células positivas para **Brachury** y **CXCR4**

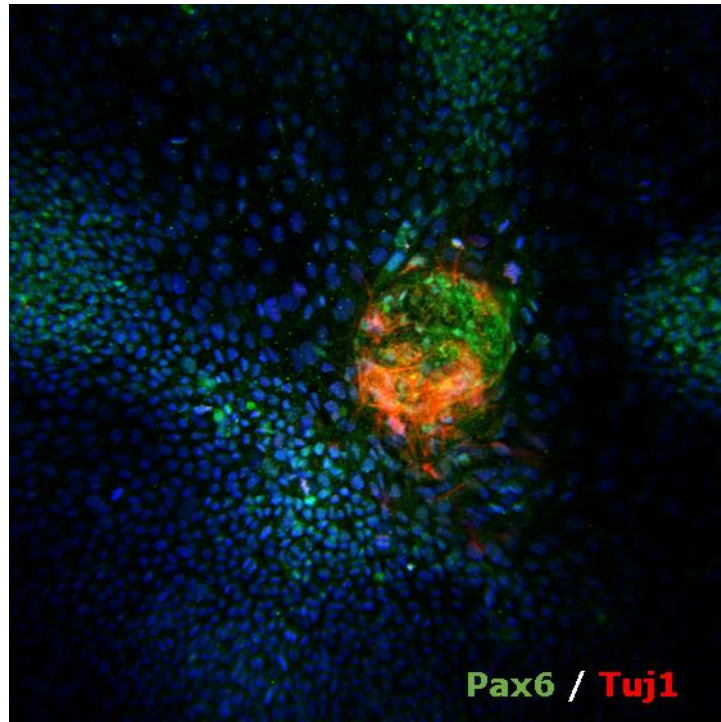
Diferenciación *in vitro* a **endodermo**



Células positivas para **FoxA2** y **CXCR4**



Diferenciación *in vitro* a **ectodermo**

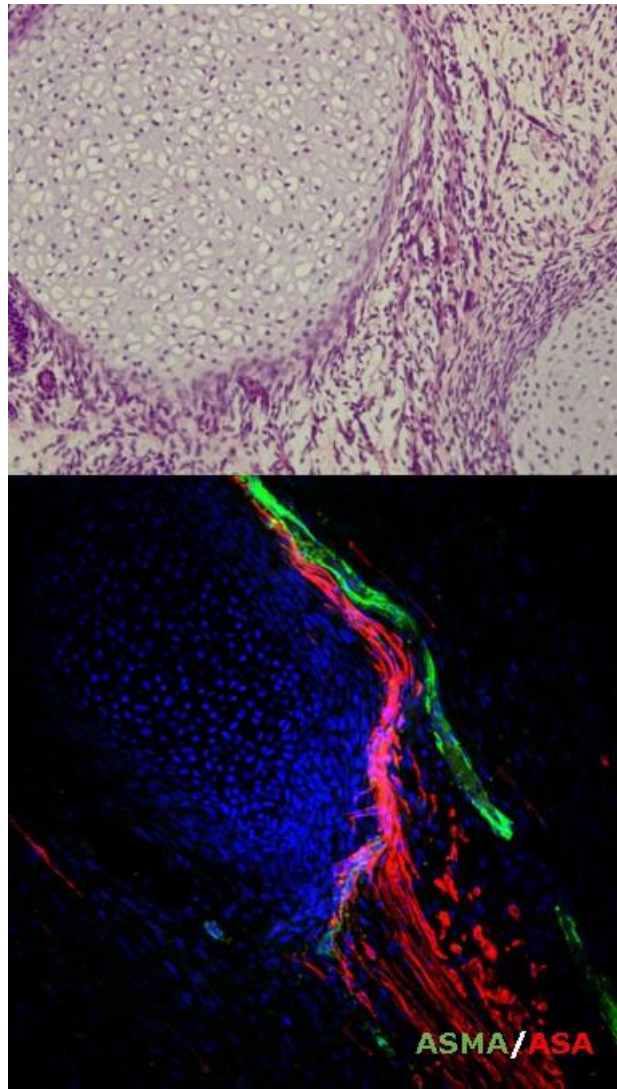


Células positivas para **Pax6** y **Tuj1**

## **Anexo 3**

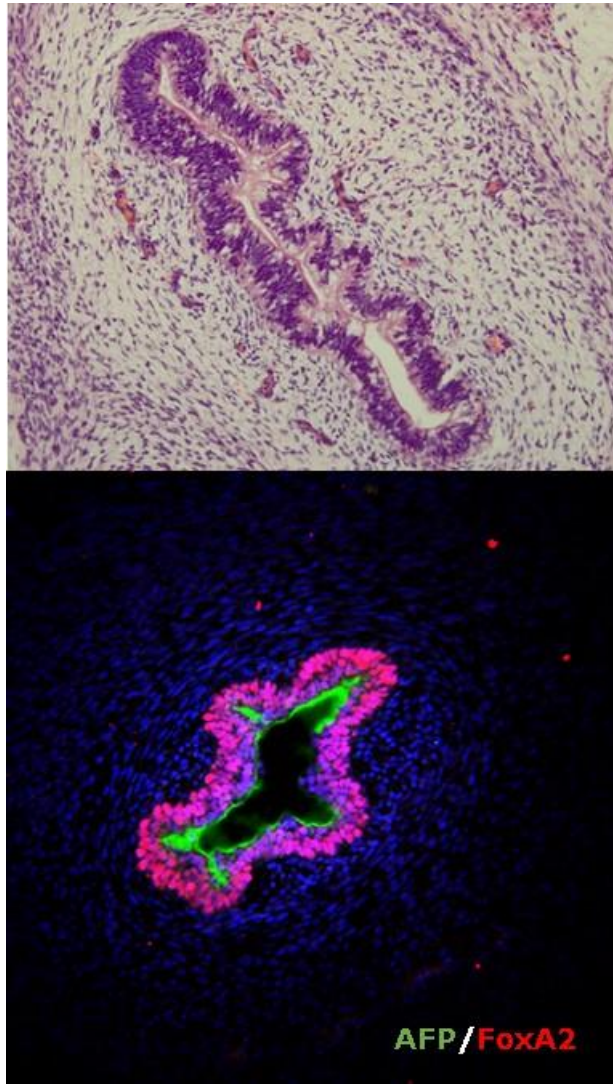
### **Diferenciación *in vivo***

Diferenciación *in vivo* a **mesodermo**



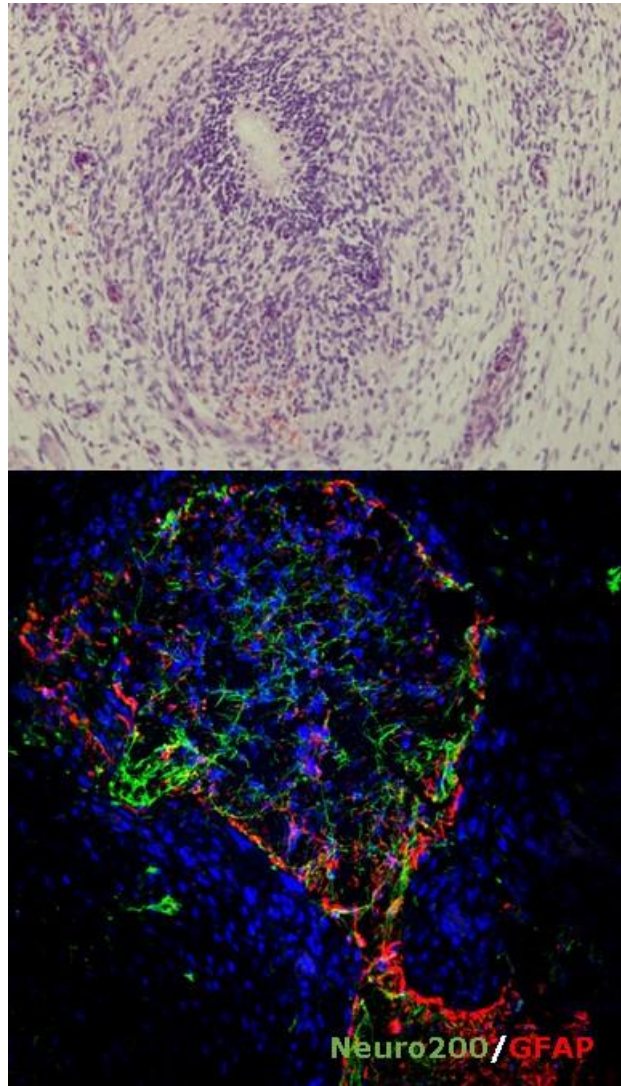
Células positivas para **ASMA** y **ASA**

Diferenciación *in vivo* a **endodermo**



Células positivas para **FoxA2** y **AFP**

Diferenciación *in vivo* a **ectodermo**

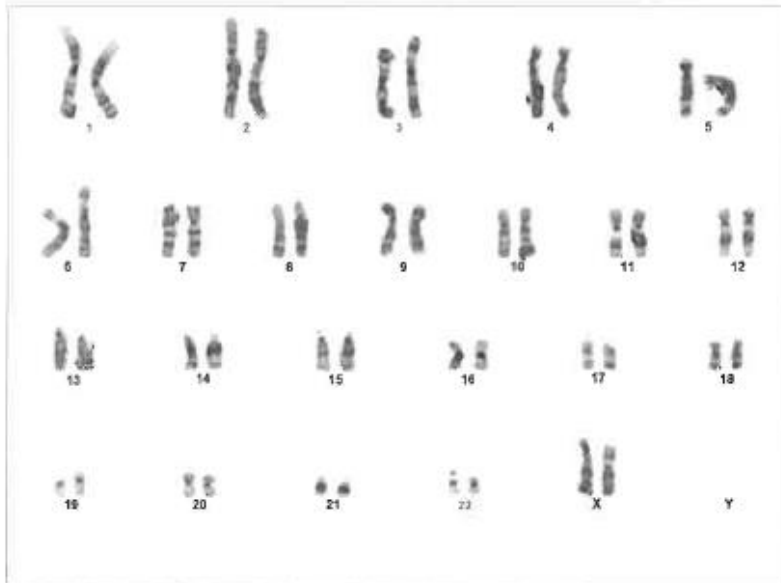


Células positivas para **Neuro200** y **GFAP**

## **Anexo 4 Cariotipo**

Cariotipo analizado en el Laboratorio de Citogenética del Servicio de Patología del Hospital del Mar (Barcelona)

Tipo de Muestra: Cel.lules IPSCs



Case: M269-19 Slide: 2\_1 Cell: V13/2\_cell 3584

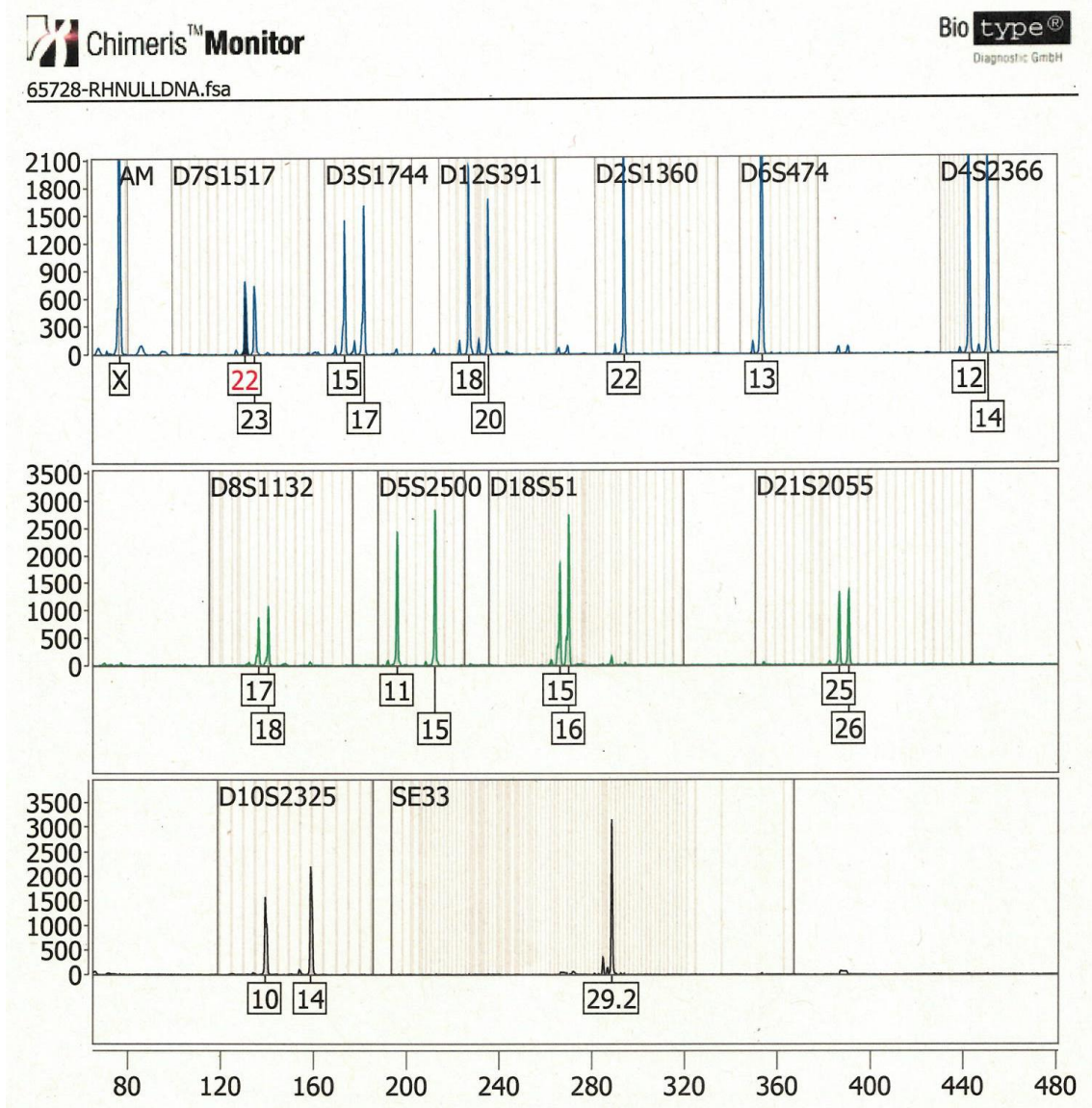
Resultado: 46,XX[20]

## **Anexo 5**

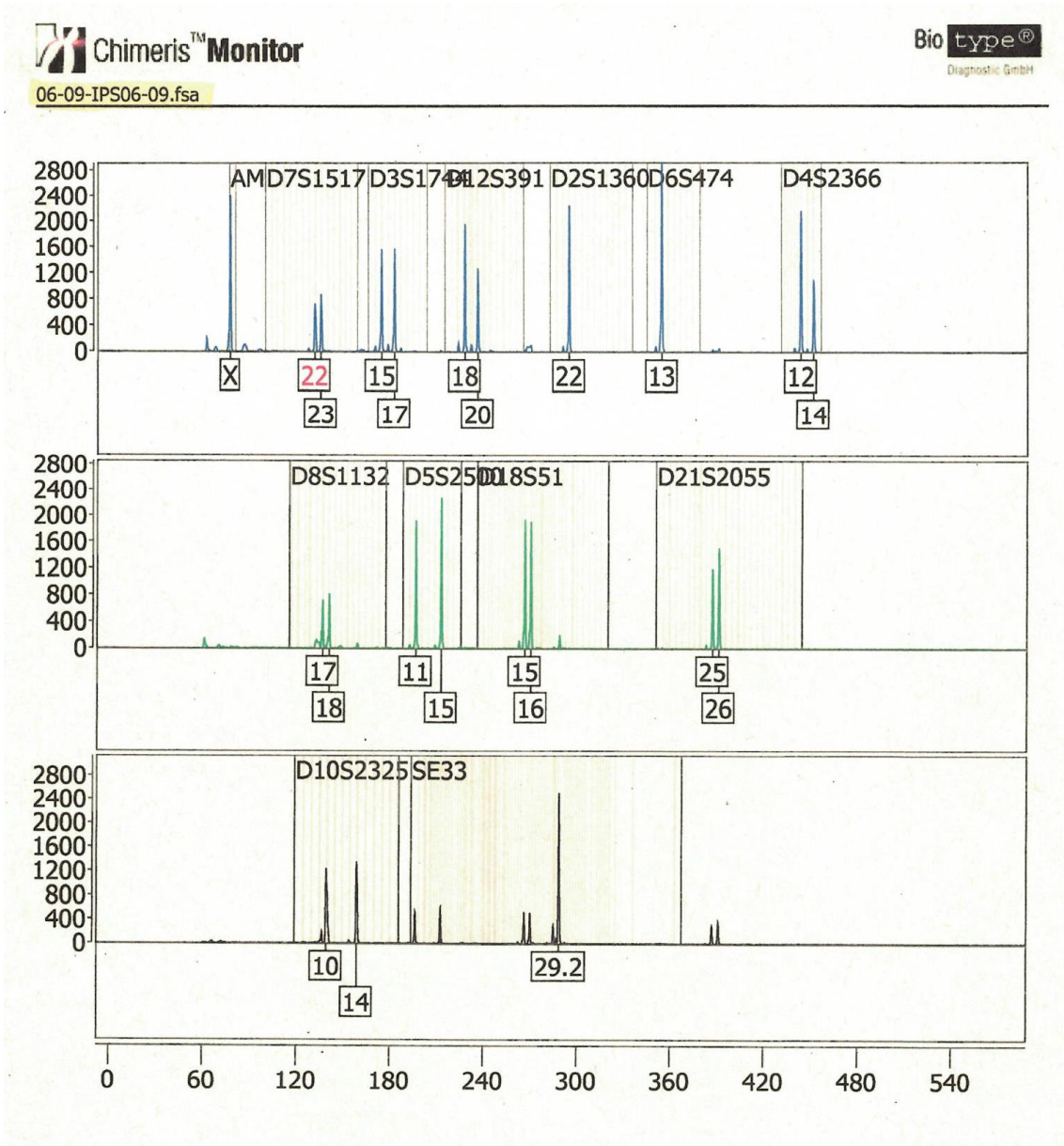
### **Resultado de microsatélites**



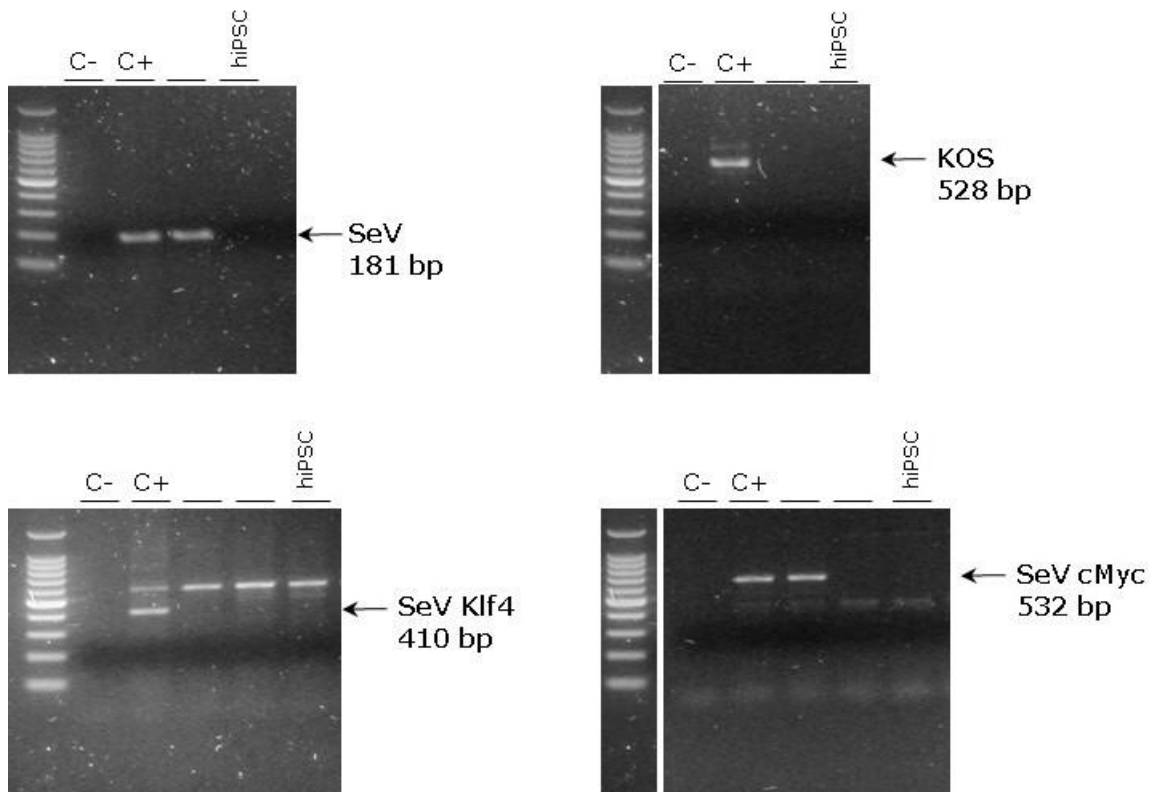
### Perfil de microsatélites de la **muestra original**



Perfil de los microsatélitos de la **línea hiPSC**

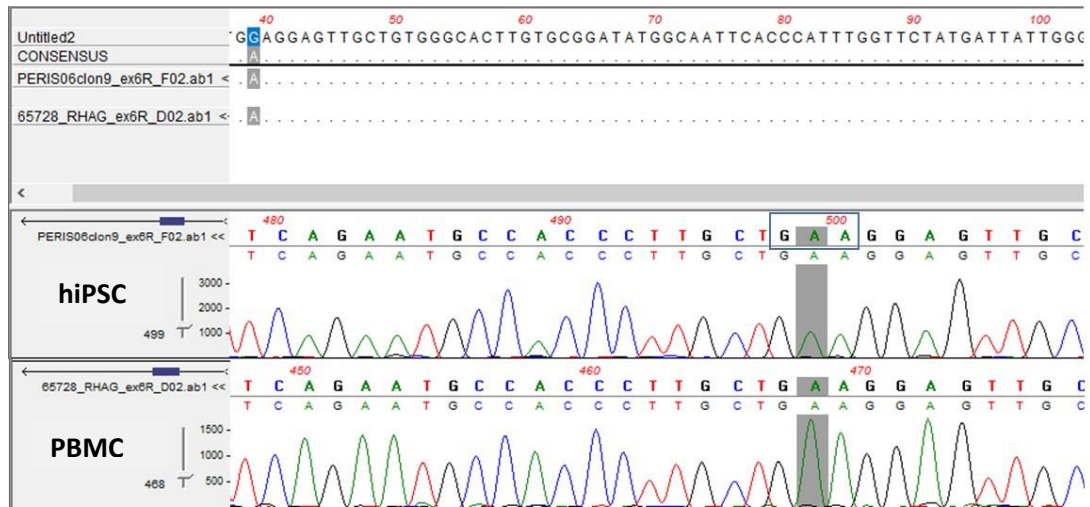


**Anexo 6**  
**Ausencia de transgenes de reprogramación**



Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de la expresión de RNA de los transgenes en la línea hiPSC generada y en las células control (células de día 3 post-transducción).

**Anexo 7**  
**Confirmación de la presencia de la mutación de la muestra  
origen**



Presencia de la mutación c.836G>A en el gen *RHAG* tanto en el DNA de la muestra original como en el de la línea hiPSC. Confirmación por secuenciación con ABI Prism 3130xl Genetic Analyzer.

## **Anexo 8**

### **Resultado test de micoplasma**

## Informe

06 9

201907221389194

Data	: 22/07/2019	
Num. Història	: 06_9p48	IMMUNOHEMATOLOGIA
Num. Episodi	: 98E376940	
Data Naixement	: No Consta	RECERCA
Ref. Externa	: 06_9p48	
Data Extraccio	: 22/07/2019	( ) BARCELONA
Origen	: 678	
Diagnòstic	:	
Observacions	:	

### Laboratori Cel.lular

Responsables: MARGARITA CODINACH CREUS; SILVIA TORRENTS ZAPATA

Validació: MIREIA LLORET

Paràmetre	Resultat	Unitats	Interval de Referència
DETECCIO DE MYCOPLASMA (ATP-LUMINISCENCIA)			
Control negatiu	Negatiu		
Control positiu	Positiu		
Tipus de mostra			
Rati mostra	0.5		
Interpretació mostra	Negatiu		

Criteris interpretatius:

Rati <1.0 Negatiu per Mycoplasma

Rati 1.0 -1.2 Zona grisa. Dubtós.

Rati >1.2 Positiu per Mycoplasma

Test de micoplasma por ATP-Luminiscencia. Resultado **NEGATIVO** para Mycoplasma.



