



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **Hz-11-27-1 CBiPS8-Sv4F-J1** 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

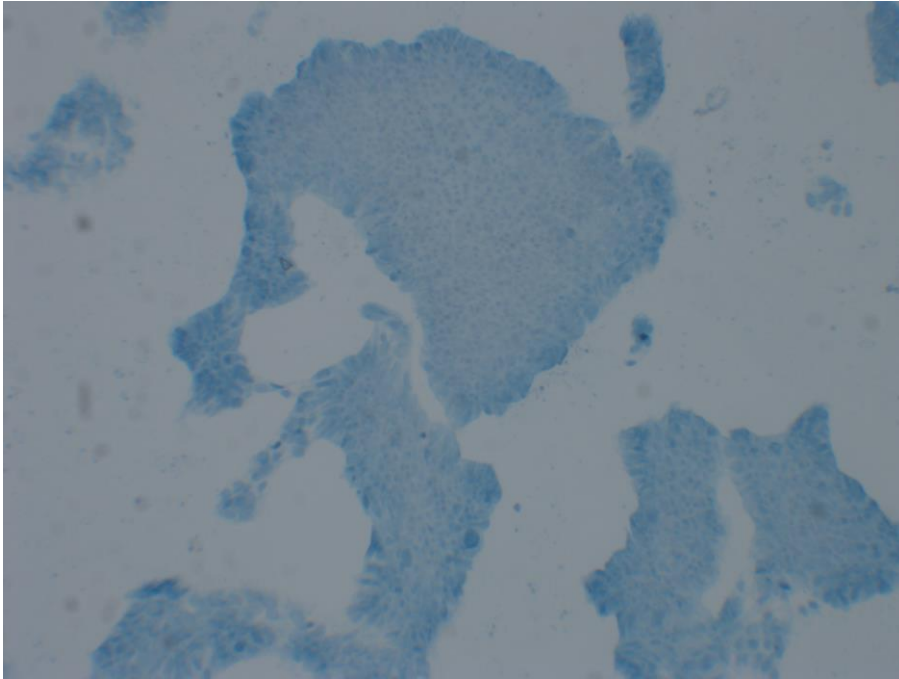
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

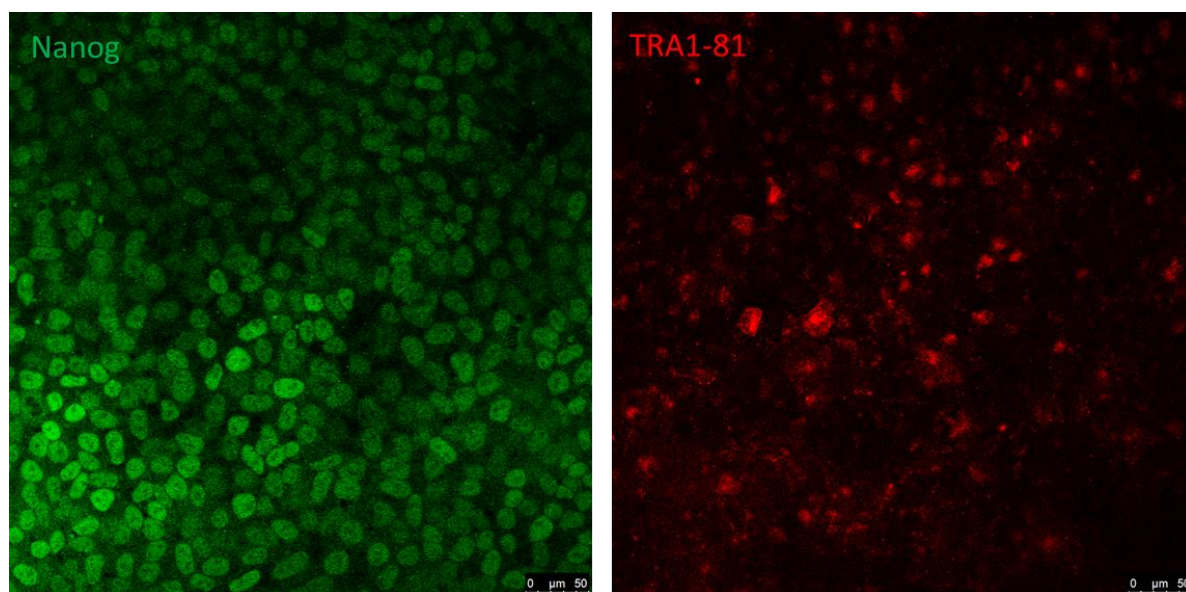


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

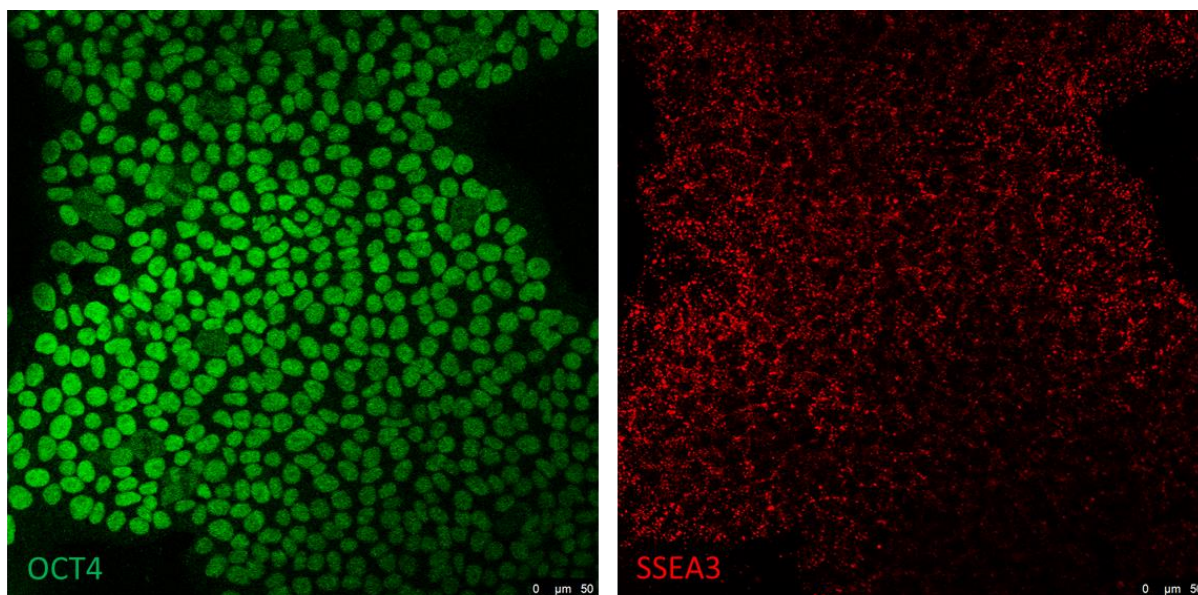


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



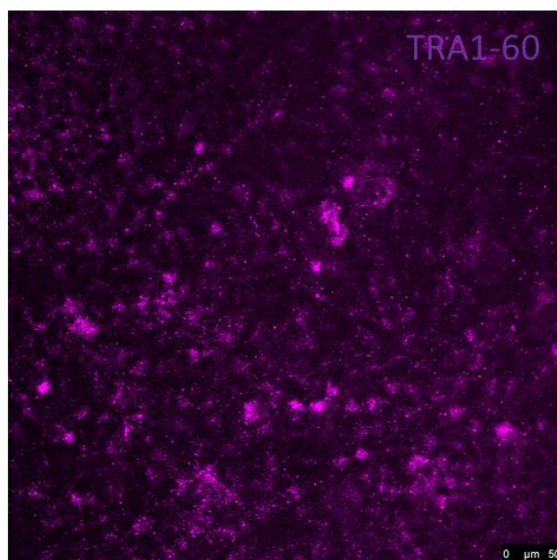
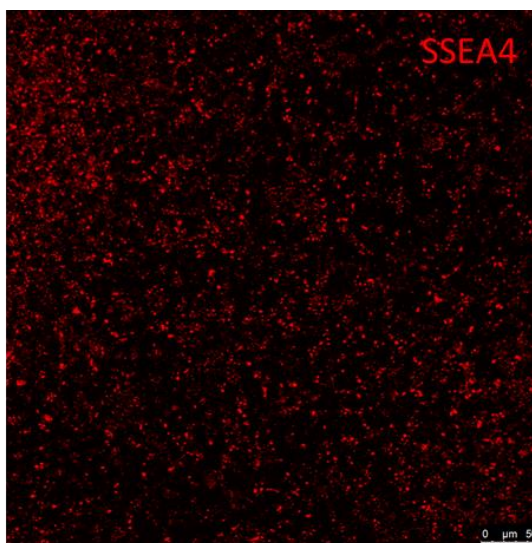
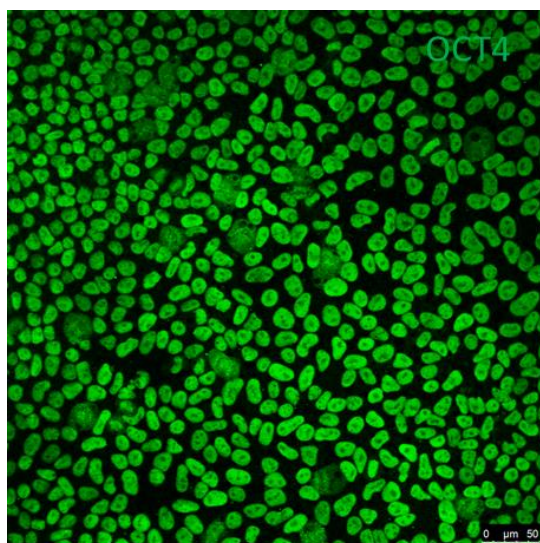
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



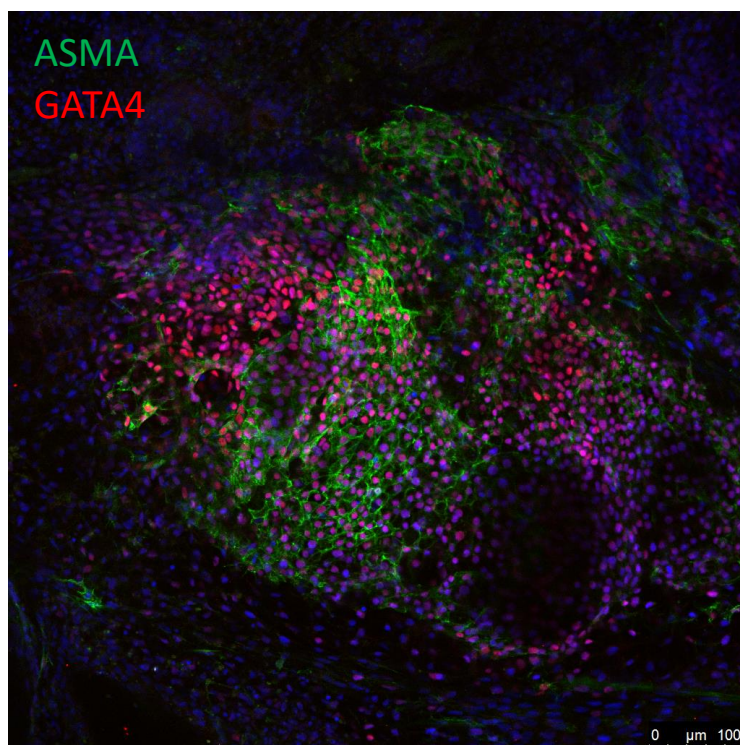
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

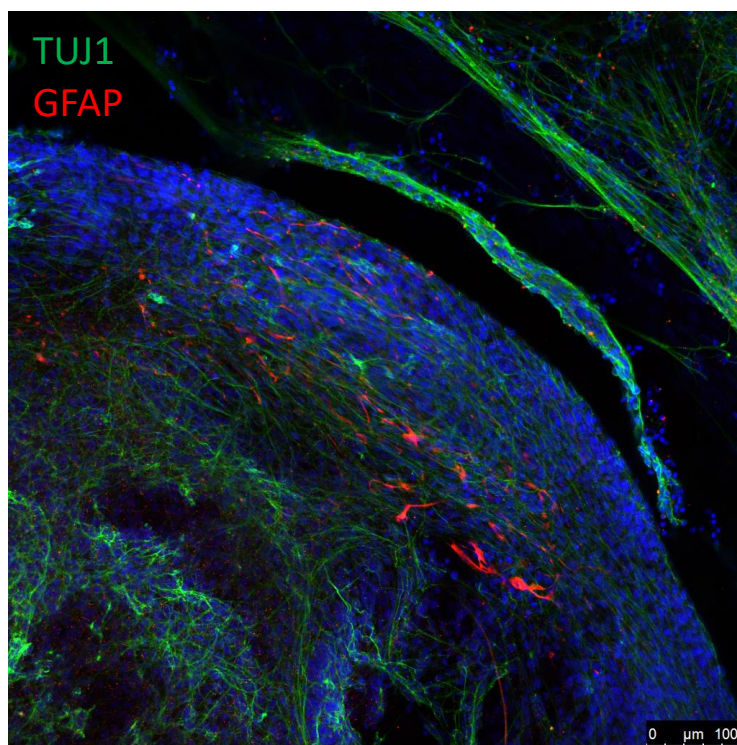


Anexo 2

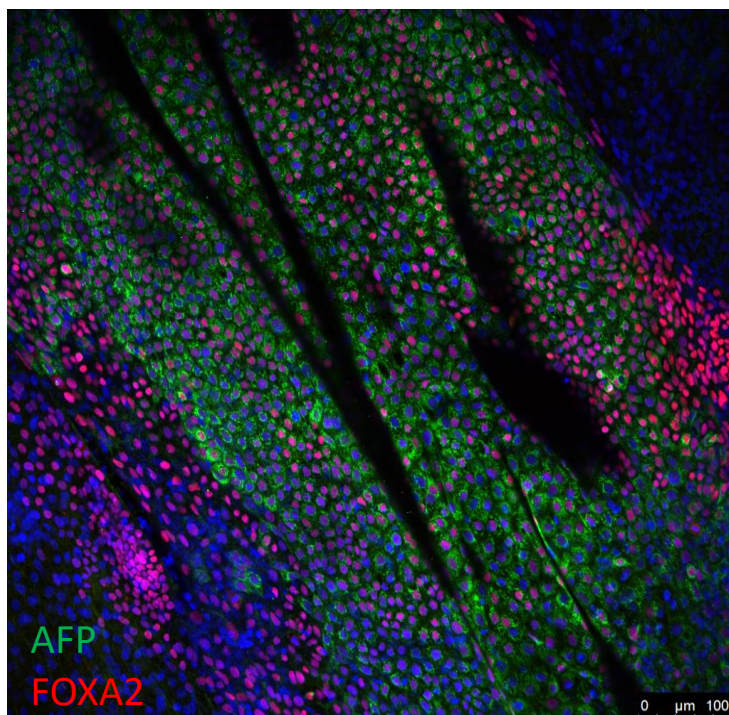
Diferenciación *in vitro*



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

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 20120982

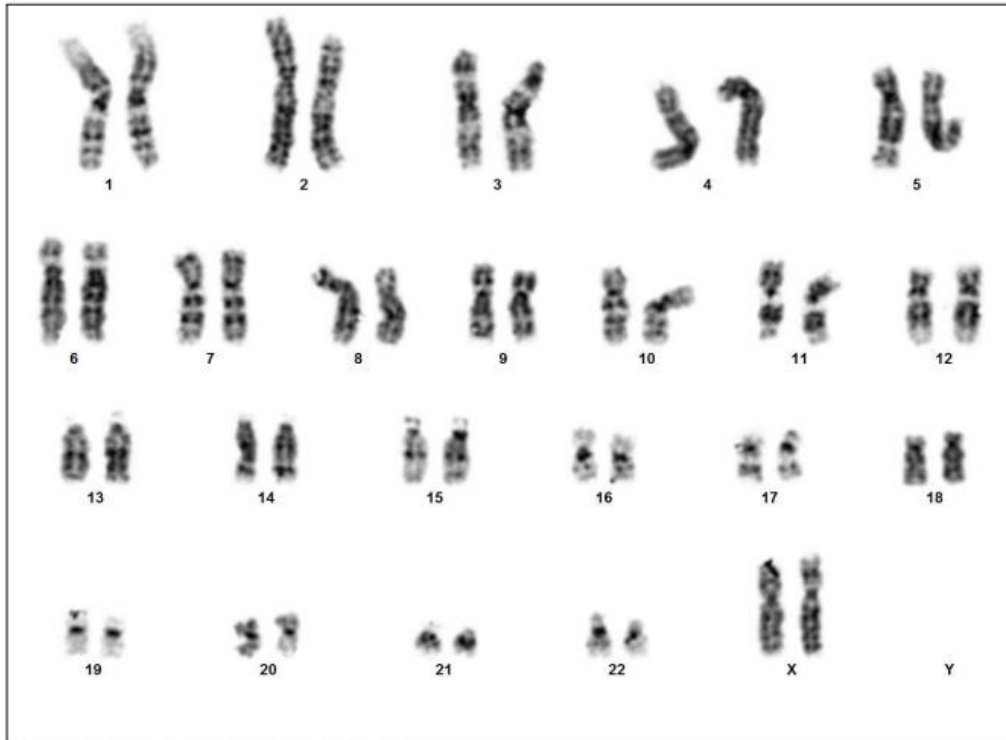
Department: IDIBELL

NHC: CT0348

Sample: CM

Name: Hz 11-27-1 CBiPS8-Sv4F-J1 p15

Date: 1/10/2022



Case: 20120982 Slide: 1 Cell: 7F

Result: 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
Hz-11-27-1 CBiPS8-Sv4F-J1 p15	8; 9.3	28; 29	11	8; 11	9	11; 12	10; 11	X; X	16	8; 11

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	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
CD34 11-27-1, J, 17.09.21.	8; 9.3	28; 29	11	8; 11	9	11; 12	10; 11	X	16	8; 11

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



Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.1

1. Control + SENDAI 2.1
2. Hz-11-27-1 CBiPS8 Sv4F-J 1, P12, post 39°C, 07.12.21
3. Hz-11-27-1 CBiPS8 Sv4F-J 6, P13, post 39°C, 09.12.21
4. Hz-11-27-1 CBiPS8 Sv4F-J 7, P14, post 39°C, 16.12.21
5. Hz-11-27-1 CBiPS8 Sv4F-J 9, P12, post 39°C, 07.12.21
6. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE)
7. SAMPLE NO RT
8. H2O

Sev (181 pb)



L- Myc (237 pb)



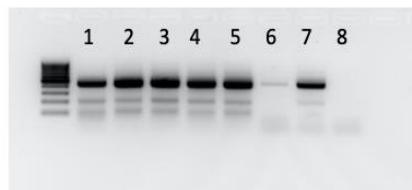
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



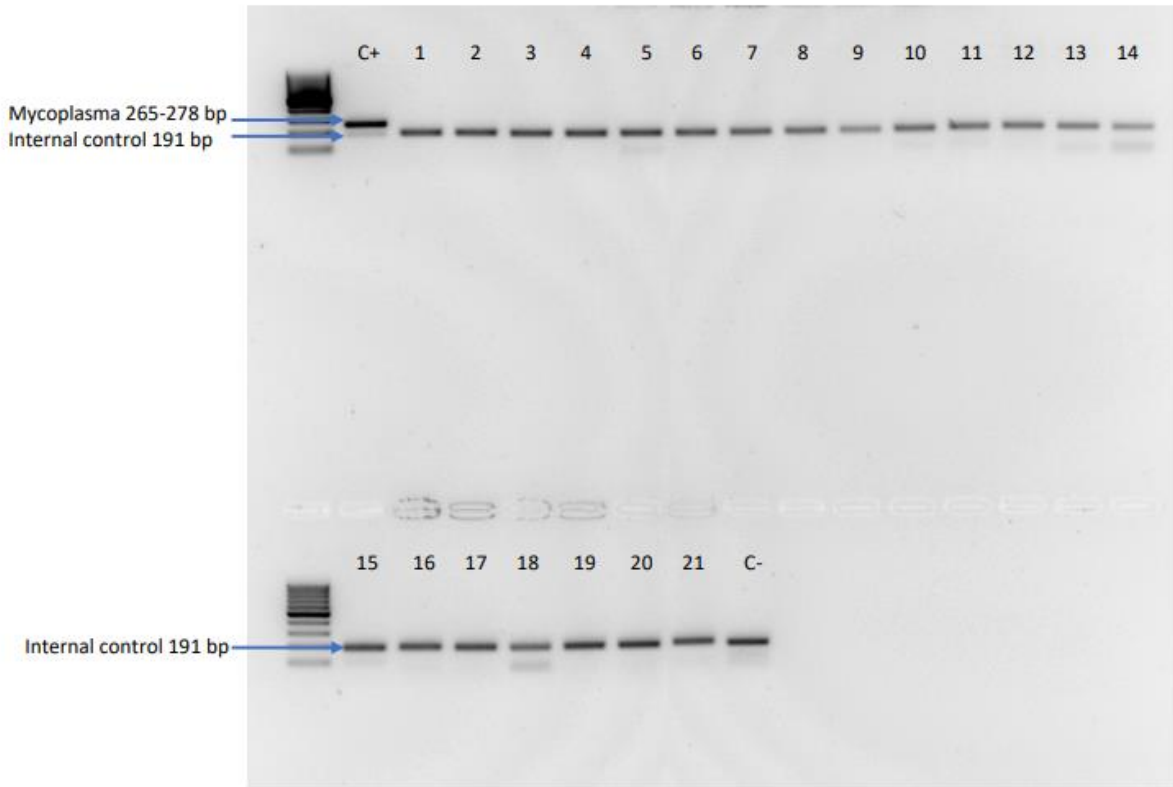
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 15/12/2021



2: Hz 11-27-1 CBiPS8 Sv4F J1, p12