

# **ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [PD]FiPS031-4F-1 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: Estudio microsatélites

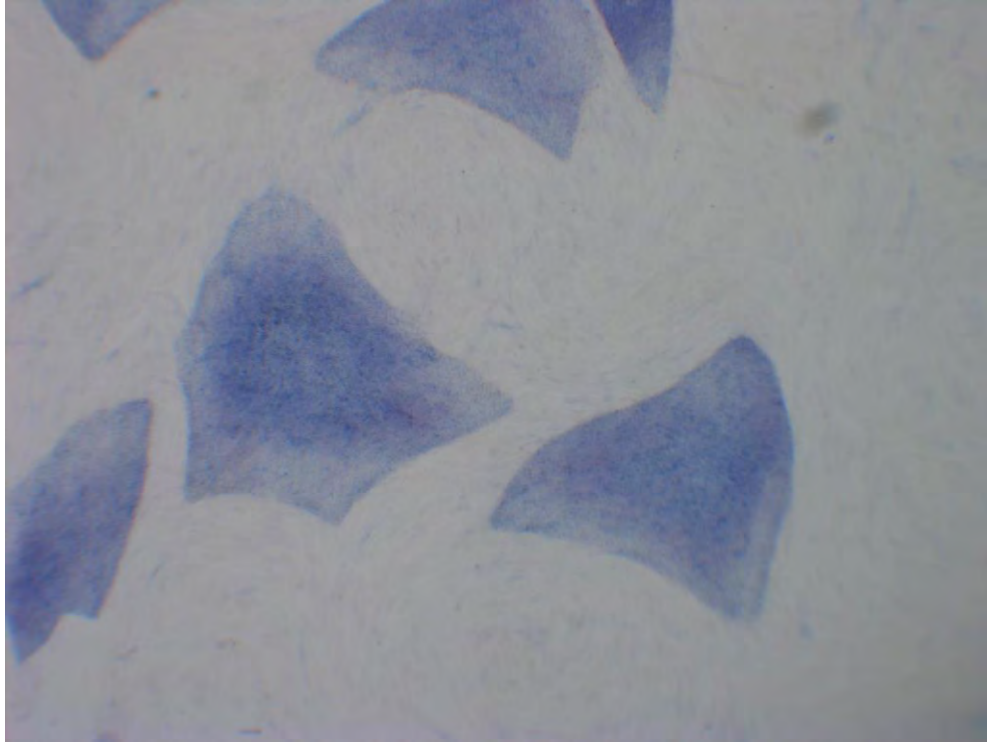
Anexo 6: Test de integración y de silenciamiento

Anexo 7: Genotipación de la línea

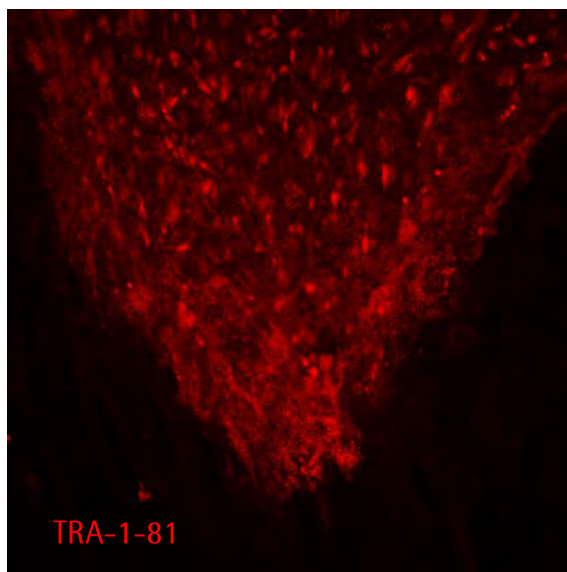
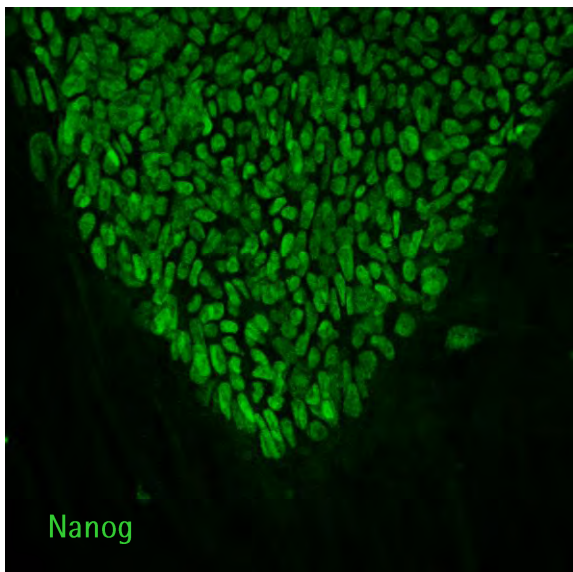
Anexo 8: Test de mycoplasma

## **Anexo 1**

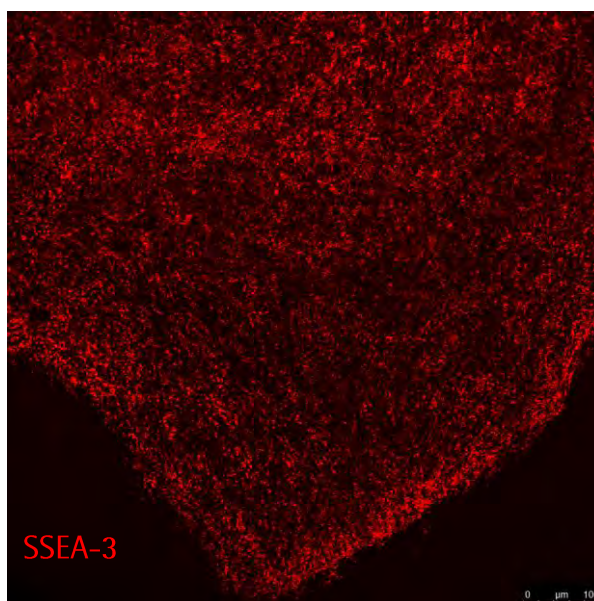
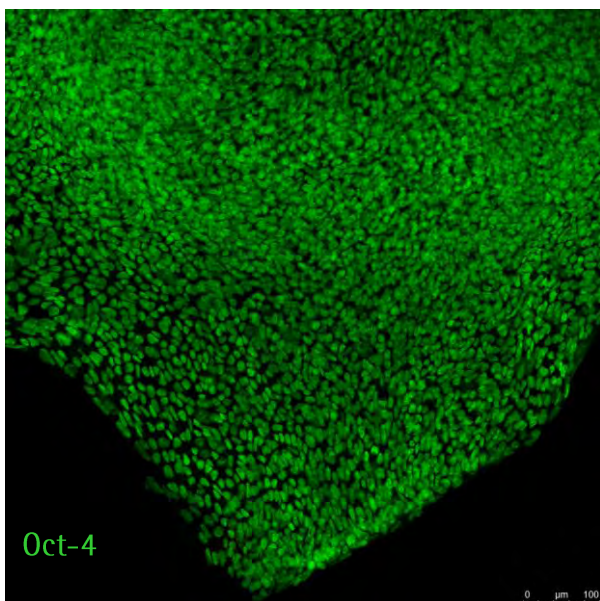
### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**



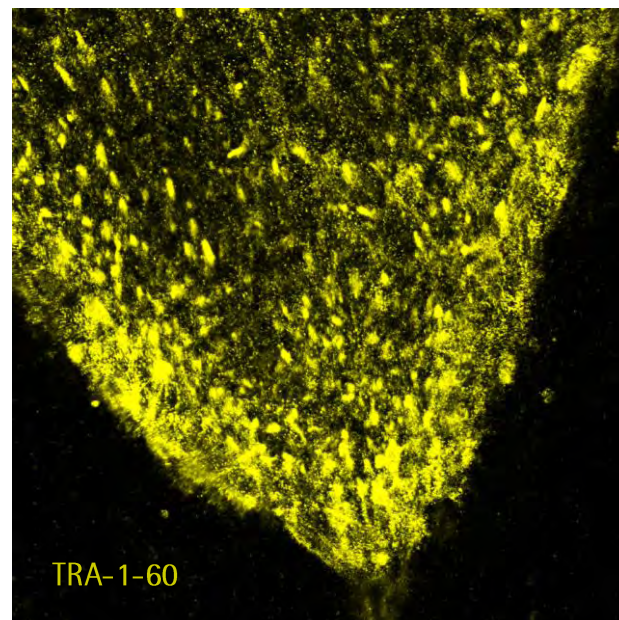
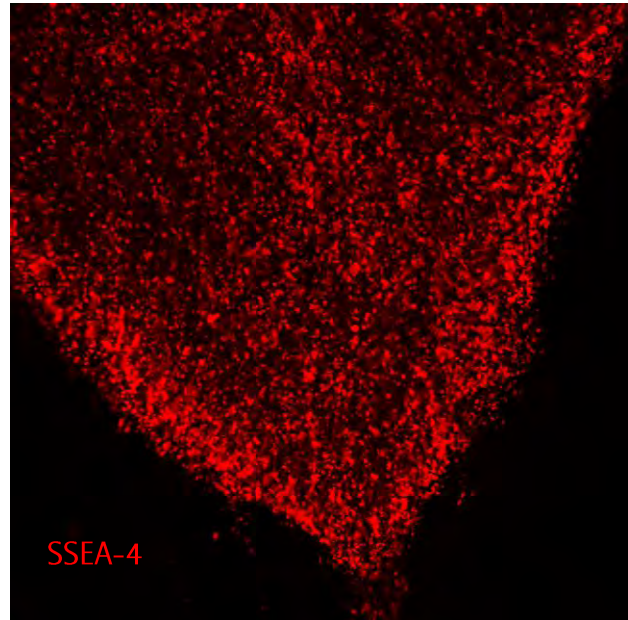
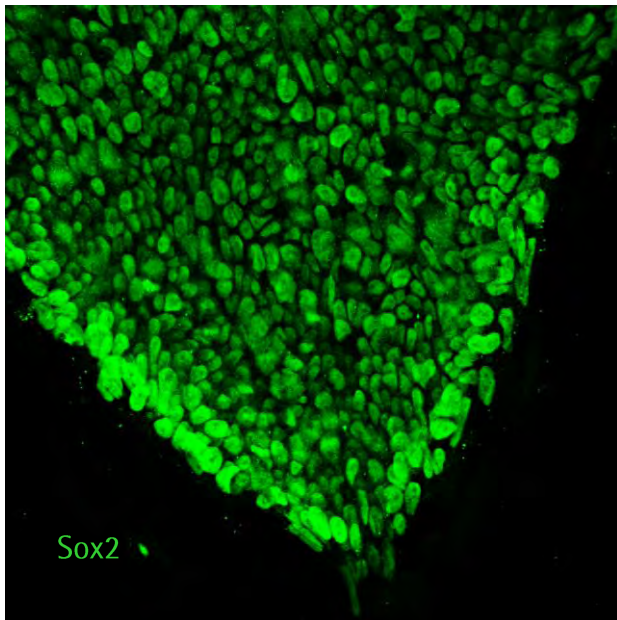
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células madre pluripotentes



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia  
**Nanog y TRA1-81**



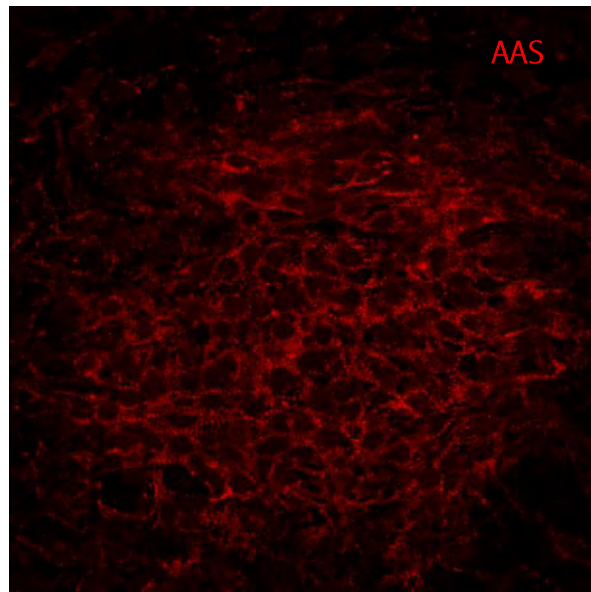
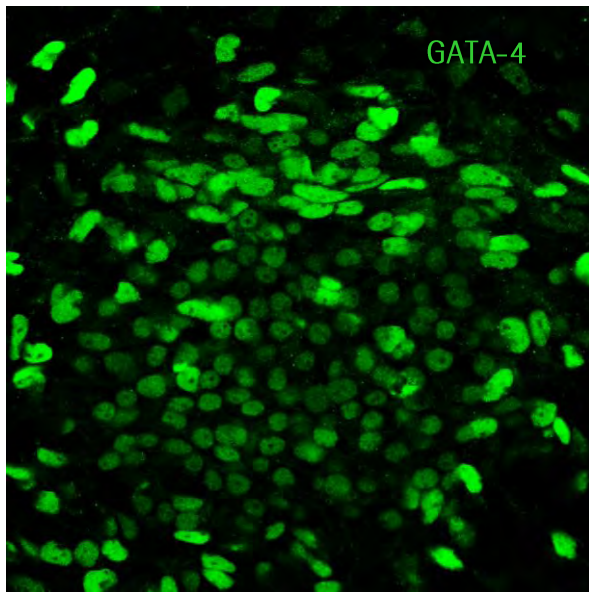
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia  
**Oct-4 y SSEA-3**



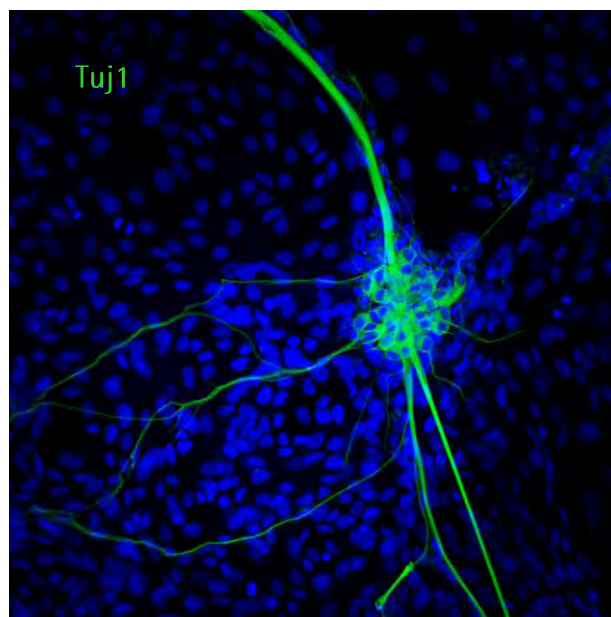
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia  
**Sox-2, SSEA-4 y TRA-1-60**

## **Anexo 2**

### **Diferenciación *in vitro***

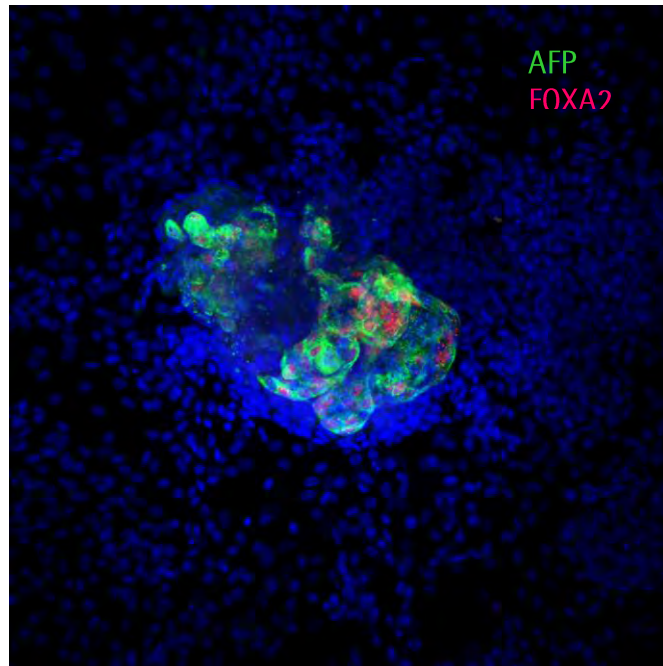


Diferenciación *in vitro* a mesoderma: Células positivas para **GATA-4** y **AAS**



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

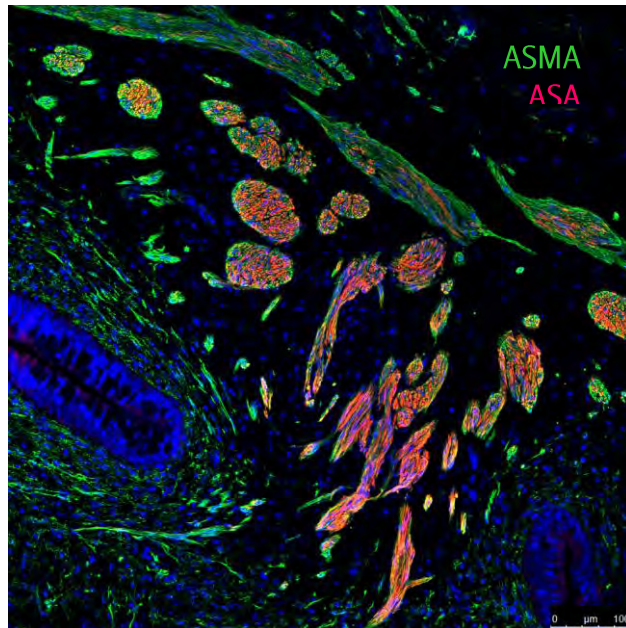




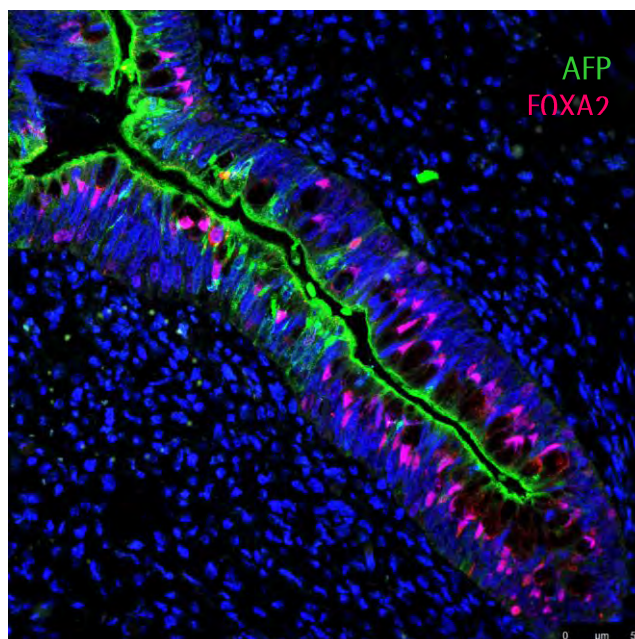
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**

## **Anexo 3**

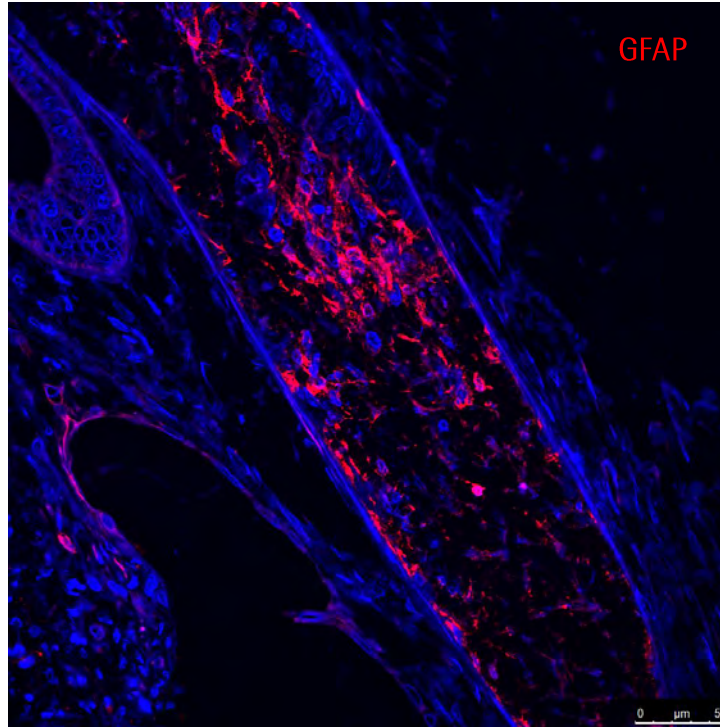
### **Diferenciación *in vivo***



Diferenciación *in vivo* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y ASA**



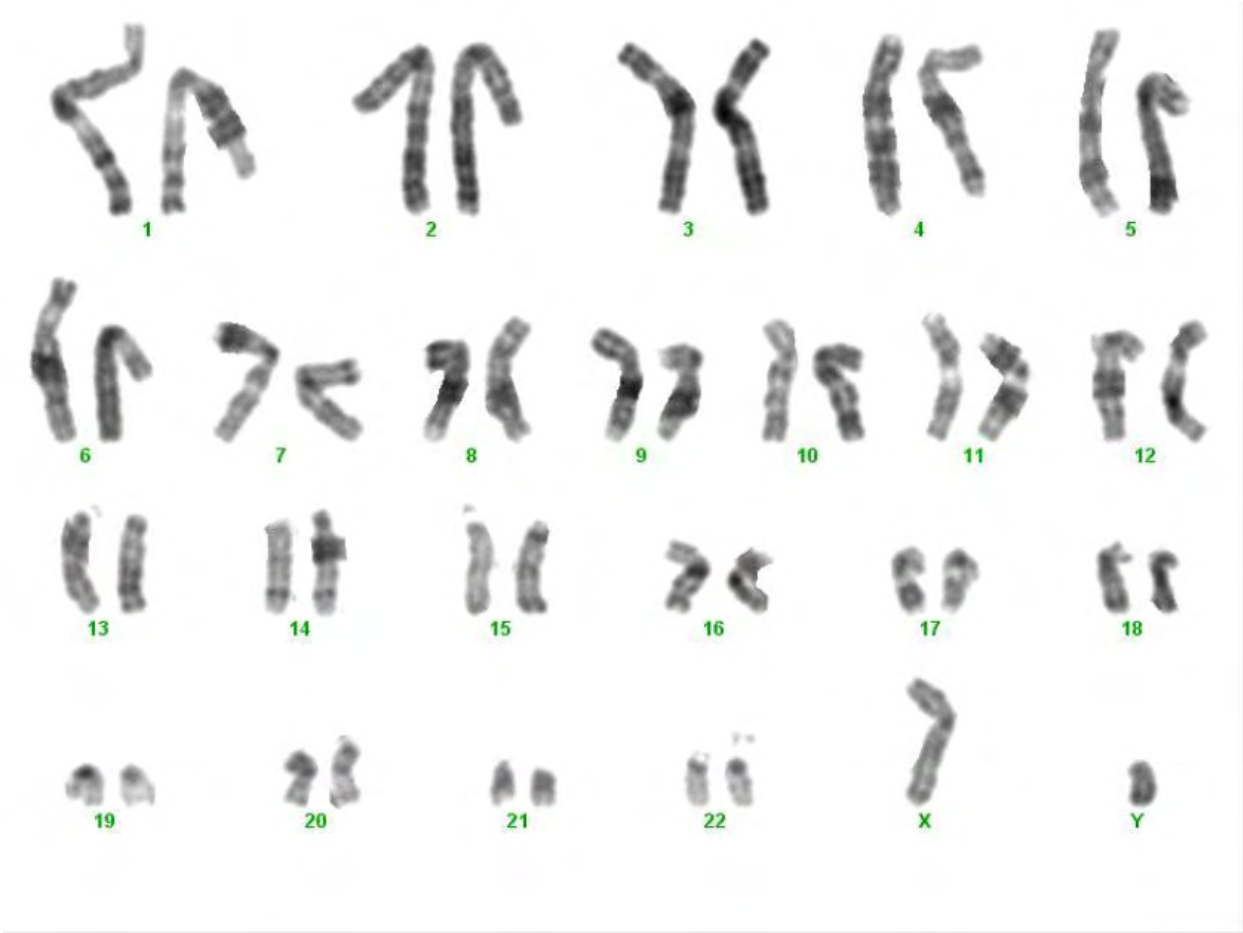
Diferenciación *in vivo* a endodermo: Células positivas para **AFP y FOXA2**



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **GFAP**

## **Anexo 4**

### **Cariotipo**



## **Anexo 5**

### **Estudio microsatélites**

Análisis de microsatélites en la línea de células madre pluripotentes [PD]031 FiPS-4F-1 y en la línea de fibroblastos de la cual proceden.



## qCell Identity Test

Web: <http://www.qgenomics.com>  
Email: [info@qgenomics.com](mailto:info@qgenomics.com)  
Tel: 93.316.08.08

### Servicio de autenticación de líneas celulares

#### Detalles de la solicitud

**Solicitante:** Cristina Gómez Santos  
**Centro:** Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona  
**Departamento:**

#### Detalles de la muestra

**Identificador externo:** PD031 FiPS-4F-1  
**Identificador interno:** qG15013241  
**Descripción:** 1 tubo de 15mL, con pellet celular.  
Nota: ID petición PD031 FiPS-4F-1, pero en el tubo indica PD FiPS 031 4F-1

### Informe de resultados

#### Resultados

**Calidad de la muestra:** Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
PD031 FiPS-4F-1	7-9	30-31.2	11-13	11-11	10-11	9-12	12-12	XY	16-18	8-8

**Coincidencia con línea celular conocida:** No Cual:

**Contaminación con otra línea celular humana:** No detectable

**Observaciones:** El patrón de marcadores STR coincide en un 100% con la línea celular Parkinson FFF-031 p7 (qG1503234)

**Firmado:**  
Manel Garcia

**Fecha:** 02/06/2015

#### Breve descripción del método

El estudio se ha realizado mediante el genotipado de marcadores STR (también conocidos como microsatélites: *TH01*, *D21S11*, *D5S828*, *D13S317*, *D7S820*, *D16S539*, *CSF1PO*, *vWA* y *TPOX*). La combinación de los nueve marcadores utilizados produce un perfil de alelos con una probabilidad de coincidencia por azar de 1 en  $2,9 \times 10^9$ . Se usa además un marcador para identificar el sexo de la muestra (*AMEL*).



### Servicio de autenticación de líneas celulares

#### Detalles de la solicitud

**Solicitante:** Cristina Gómez Santos  
**Centro:** Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona  
**Departamento:**

#### Detalles de la muestra

**Identificador externo:** Parkinson FFF-031 p7  
**Identificador interno:** qG15013234  
**Descripción:** 1 tubo 1.5mL con pellet celular.  
Nota: ID petición Parkinson FFF-031 p7, pero en el tubo indica Fibras FFF-03

### Informe de resultados

#### Resultados

**Calidad de la muestra:** Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	DI6S539	CSFIPO	AMEL	vWA	TPOX
Parkinson FFF-031 p7	7-9	30-31.2	11-13	11-11	10-11	9-12	12-12	XY	16-18	8-8

**Coincidencia con línea celular conocida:** No Cual:

**Contaminación con otra línea celular humana:** No detectable

**Observaciones:** El patrón de marcadores STR coincide en un 100% con la línea celular PD031 FIPS-4F-1 (qG15013241)

**Firmado:**  
Manel Garcia

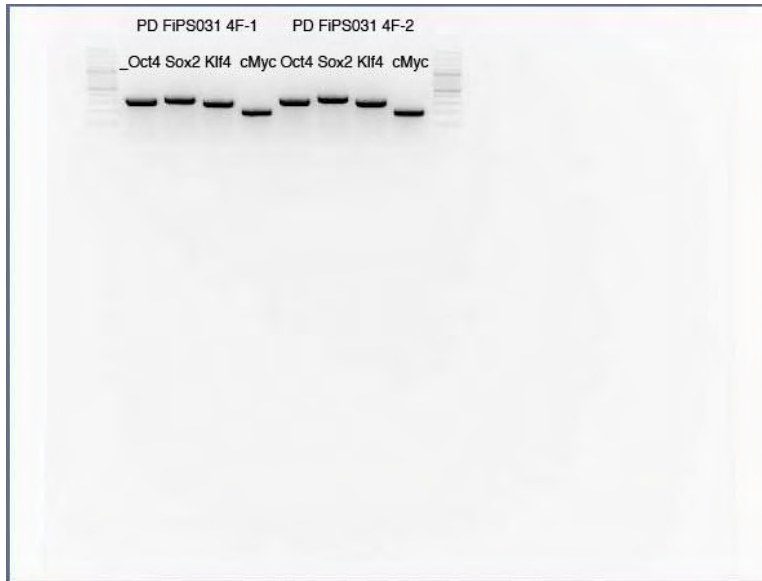
**Fecha:** 02/06/2015

#### Breve descripción del método

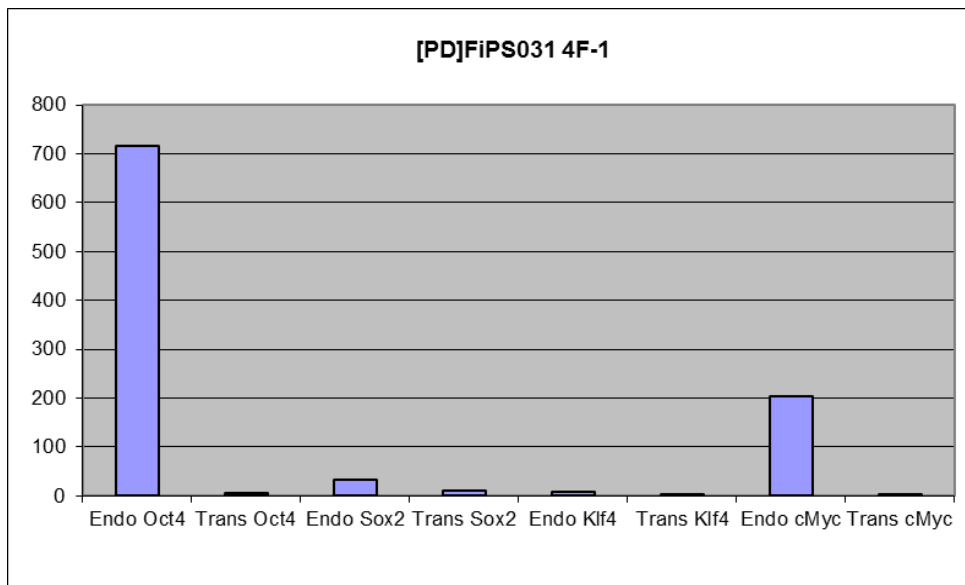
El estudio se ha realizado mediante el genotipado de marcadores STR (también conocidos como microsatélites: TH01, D21S11, D5S828, D13S317, D7S820, DI6S539, CSFIPO, vWA y TPOX). La combinación de los nueve marcadores utilizados produce un perfil de alelos con una probabilidad de coincidencia por azar de 1 en  $2,9 \times 10^9$ . Se usa además un marcador para identificar el sexo de la muestra (AMEL).

## **Anexo 6**

# **Estudio integración y de silenciamiento**



Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los 4 genes utilizados (Oct-4, Sox-2, Klf4 y c-myc) para generar la línea [PD]031 FiPS-4F-1



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

## **Anexo 7**

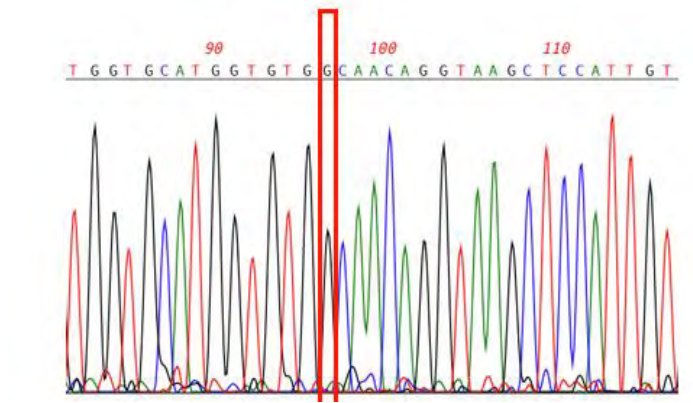
### **Genotipación de la línea**

## A53T mutation in PD

FFF 031 FiPS 4F#1

WT exon 3 for SNCA:

AGATTGAGATTTTAAATTAGTTGTATTGAAAAGCTAGCTAATCAGCAATTTAAGGCT  
AGCTTGAGACTTATGTCTTGAATTTGTTTTTGTAGGCTCCAAAACCAAGGAGGGAGT  
GGTGCATGGTGTGGCAACAGGTAAGCTCCATTGTGCTTATATCCAAAGATGATATT  
TAAAGTATCTAGTGAT

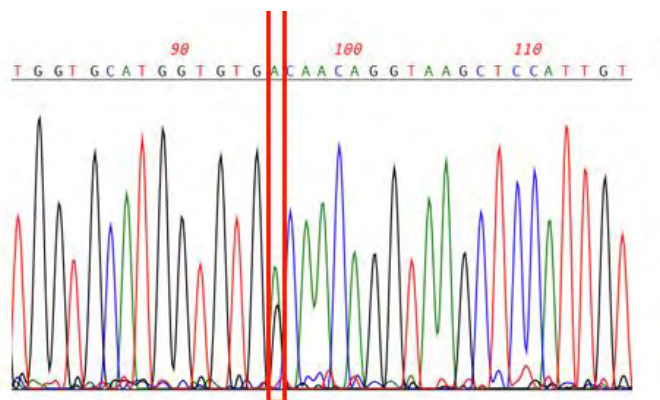


Samples:

Sequencing result iPS\_031:

TGAATAGGCCTATGGCAATTTAAGGCTAGCTTGAGACTTATGTCTTGAATTTGTTTT  
TGTAGGCTCCAAAACCAAGGAGGGAGTGGTGCATGGTGTGACAACAGGTAAGCTCC  
ATTGTGCTTATATCCAAAGATGATATTTAAAGTATCTAGTGATA

Mutation detected in heterozygosis:



## **Anexo 8**

### **Test de mycoplasma**

## MYCOPLASMA TEST

1

2 3



1. [PD] FiPS031-4F-1
2. CT -
3. CT +