

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO  
DE LA LÍNEA CELULAR **[RP]-FiPSC1-Ep5F-  
10** EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS  
CELULARES

## Anexos:

- Anexo 1: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen y su correspondiente línea iPSC
- Anexo 2: Test de fosfatasa alcalina y marcadores de Pluripotencia
- Anexo 3: Test de diferenciación *in vitro*
- Anexo 4: Cariotipo
- Anexo 5: Test de integración y silenciamiento
- Anexo 6: Secuenciación Sanger de la mutación
- Anexo 7: Test de *Mycoplasma*

## Anexo 1:

La línea original de fibroblastos FbRP1 coincide en los microsatélites analizados (CSF1PO, D13S317, D16S539, D21S11, D5S818, D7S820, TH01, TPOX y vWA, y Amelogenin) con la línea iPSC a depositar

### Análisis de microsatélites de la línea de fibroblastos FbRP1:

## 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
FbRP1	6; 9	28; 29	12; 13	12; 14	9	12; 13	10; 14	X	16; 18	8; 11

Barcelona, a 23 de mayo de 2023

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

Análisis de microsatélites de la línea iPSC a depositar:

## 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
[RP]-FiPSC1-Ep5F-10 p7	6; 9	28; 29	12; 13	12; 14	9	12; 13	10; 14	X	16; 18	8; 11

Barcelona, a 23 de mayo de 2023

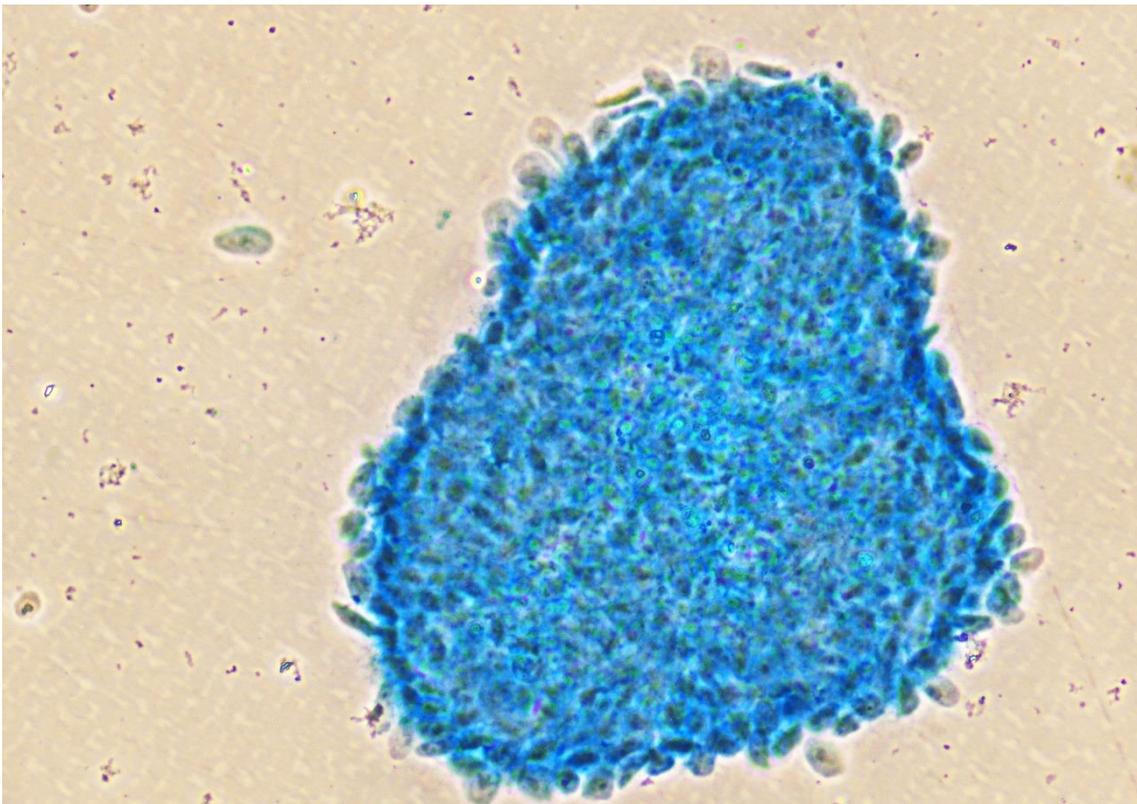
Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

## Anexo 2:

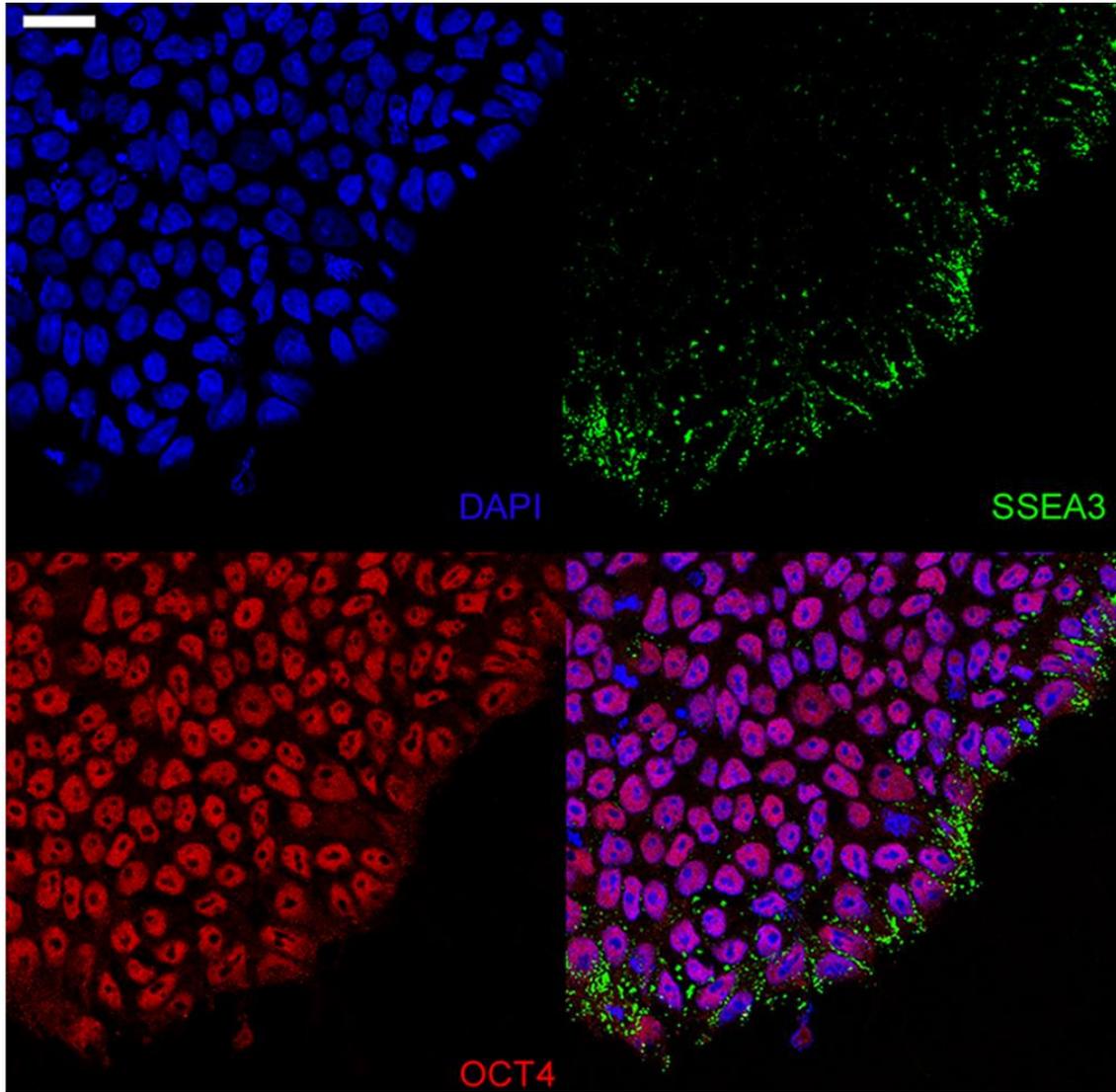
### Test de Fosfatasa alcalina

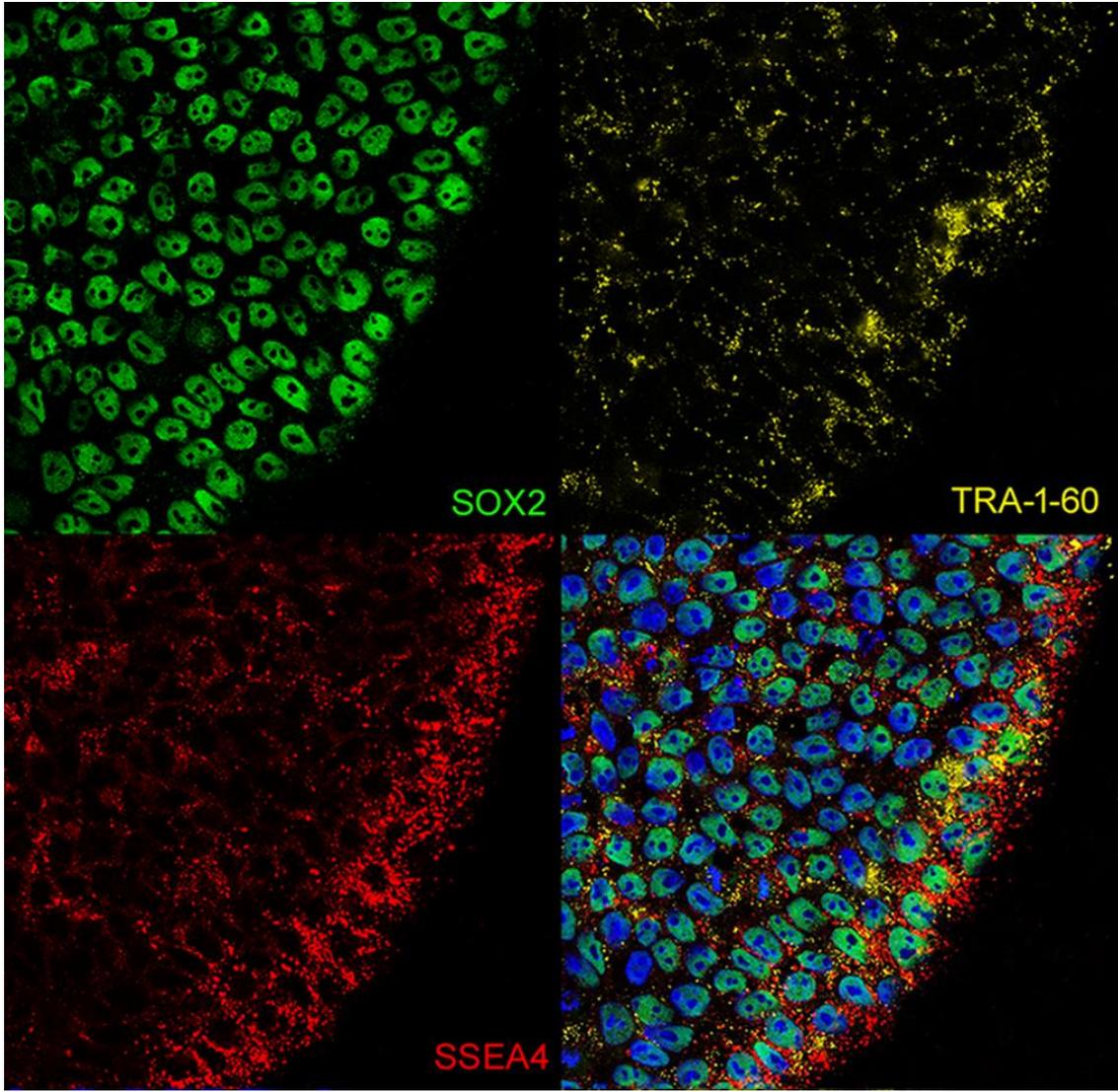
Test de fosfatasa alcalina positivo demostrando alta actividad de fosfatasa alcalina, característico de las células iPSC.

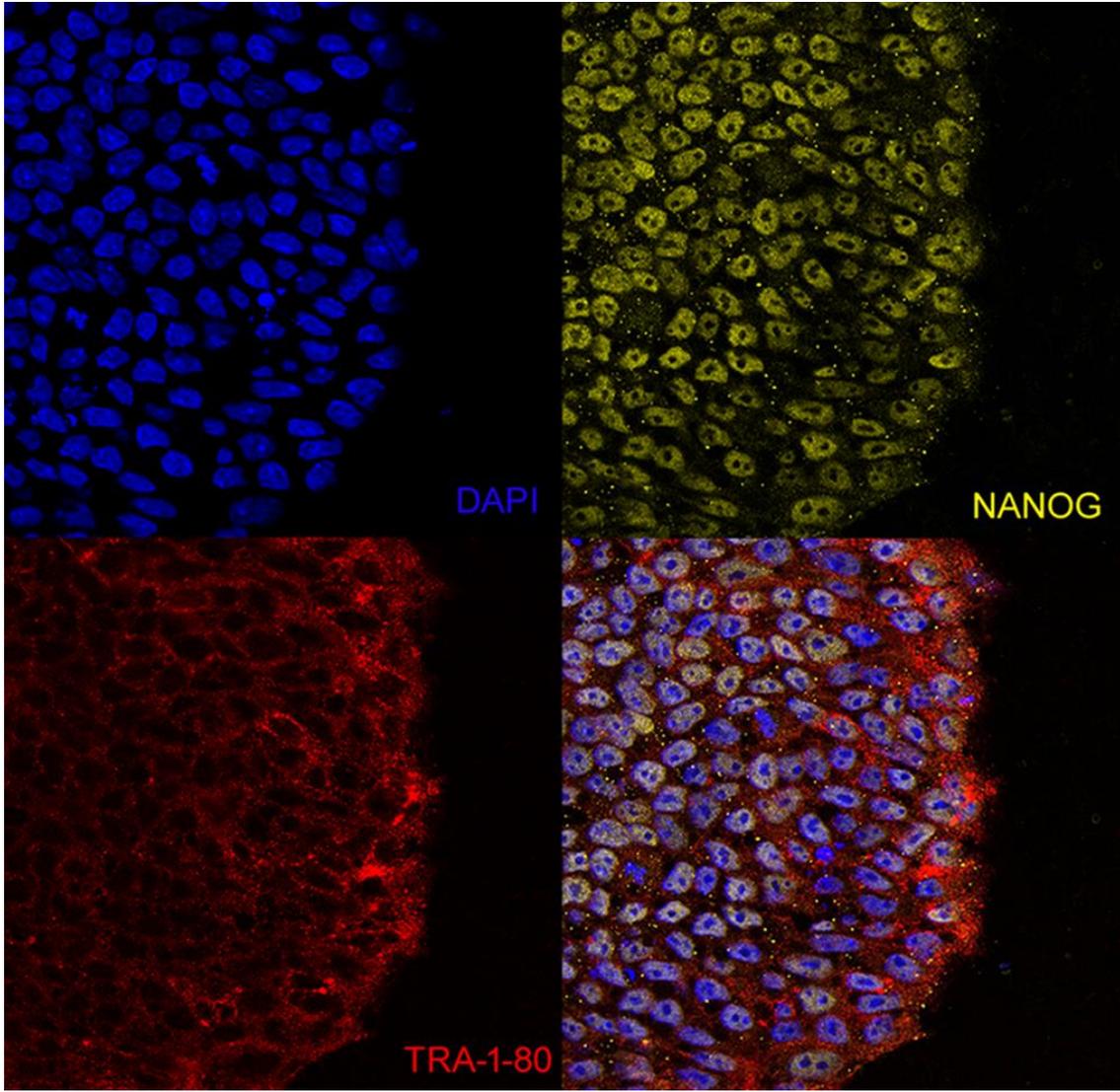


Marcadores de pluripotencia:

Inmunoreactividad positiva a los marcadores de pluripotencia OCT4, SSEA3, SOX2, SSEA4, TRA1-60, NANOG, y TRA-1-81. Escala de 25  $\mu$ m.

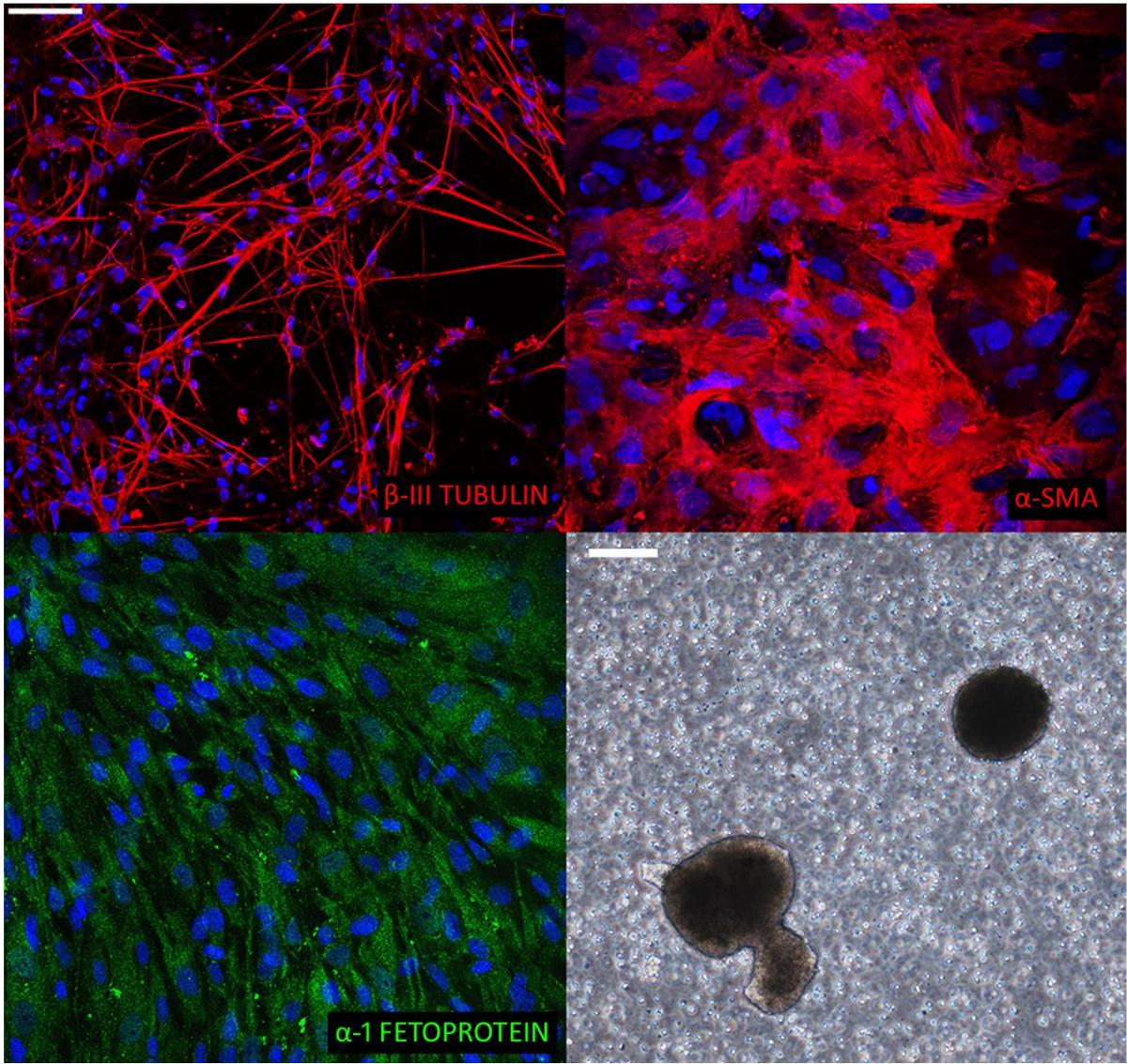






### Anexo 3:

Inmunoreactividad positiva a marcadores de las tres capas germinales: ectodermo ( $\beta$ -III Tubulin), mesodermo ( $\alpha$ -SMA) y endodermo ( $\alpha$ -1 Fetoprotein). Junto a una micrografía de los cuerpos embrionarios generados. Escala 25  $\mu$ m y 200 $\mu$ m



**Anexo 4:**

**Análisis citogenético sin alteraciones**



**CYTOGENETICS STUDY**

Case name: 31300925  
 Name: RP FiPSC1 Ep5F-10 p7  
 NHC: CT0597

Department: IDIBELL  
 Date: 5/18/2023  
 Sample: CM



Case: 31300925 Slide: 1 Cell: 4F

Result: 46,XX

**SJD**  
**Àrea de laboratori**  
 Sant Joan de Déu Barcelona

Laboratori Central  
 Hosp. Univ. Materno-infantil Sant Joan de Déu  
 Pg Sant Joan de Déu, 2  
 08950 Esplugues de Llobregat  
 Laboratori certificat segons la norma UNE-EN ISO 9001:2015 (ER-1333/2002)

Tel. (+34) 93.253.21.10  
 e-mail: laboratori@sjdhospitalbarcelona.org

Servei peticionari	IDIBELL	<b>RP FiPSC1 Ep5F-10 p7,</b>
Núm. H. Clínica	CT0597	
Data naixement	Sexe ?	
Data recepció mostra	10/05/2023 13:40	
Clau laboratori	001/3.130.0925	
Referència externa		

**COMPLET**

DATA EMISSIÓ : 22/05/2023  
 HOSPITAL SANT JOAN DE DÉU

ANÀLISI	RESULTAT	UNITATS	REF.	P	1 / 1
---------	----------	---------	------	---	-------

**GENÈTICA**

**ESTUDI CITOGENÈTIC**

✓ Cariotip cèl·lules mare

Tècnica: Cultiu convencional per a aquest tipus de tinció de bandes G. Nivell de resolució entre 300 i per joc haploïd.

Metafases estudiades: 20

Fórmula cromosòmica : 46,XX

**Interpretació:**

No s'han detectat anomalies cromosòmiques estructurals entre les metafases analitzades.

**Observacions:**

Aquest resultat pot veure's afectat per les de la tècnica, com ara la presència d'un mosaic de freqüència o la detecció d'alteracions estructurals criptiques. No s'informa dels s'interpreten com a heteromorfismes. Aquest recomanacions de la European Guidelines for Cytogenetics Analysis 2018 i ISCN vigent.

<http://corilabs/Storage/7ug8kojjfz3vcc0prrwaiw3nrtcf0kk7.pdf####31300925.pdf>

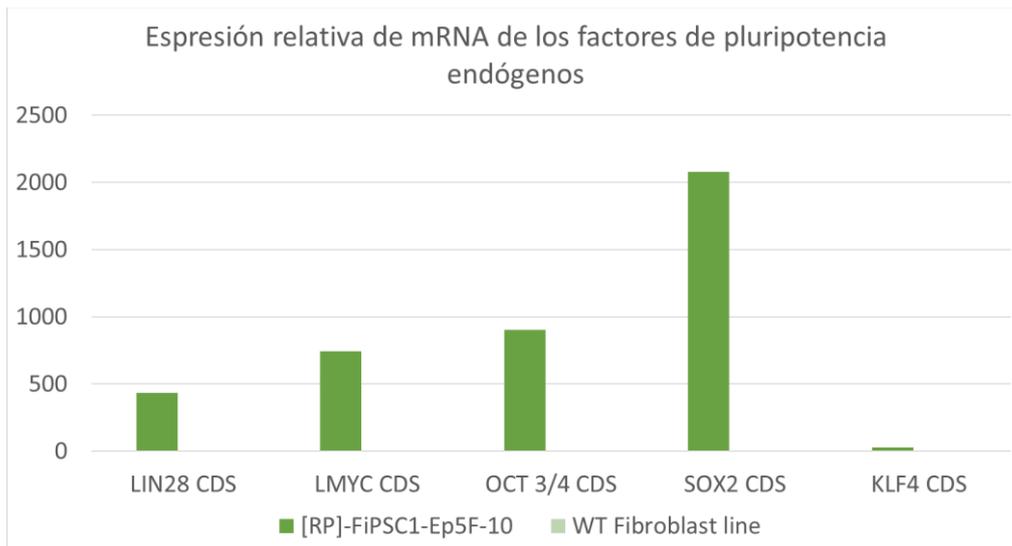
Validat per : Dra. Cuatrecasas Capdevila Esther

## Anexo 5:

### Test de integración

Técnica: qRT-PCR

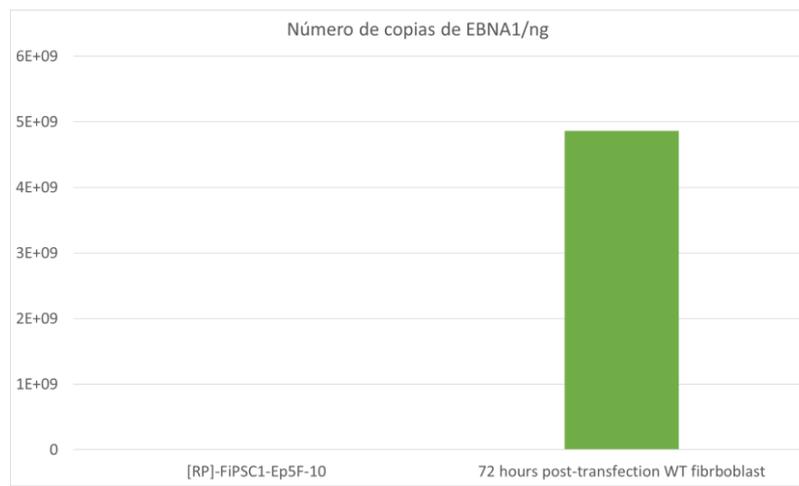
Expresión relativa del mRNA de los factores de pluripotencia endógenos (Lin28, LMYC OCT3/4, SOX2 y KLF4) significativamente mayor que en una línea de fibroblastos WT.



### Test de silenciamiento:

Técnica: quantitative copy number PCR

Ausencia de copias de secuencias EBNA1 presente en todos los vectores de reprogramación utilizados. Control una línea de fibroblastos WT 72 horas post transfección.





## Anexo 7:

Resultado negativo del test de *Mycoplasma* utilizando el kit MycoStrip™ (Invivogen, Toulouse, France) basado en PCR isotérmica.

