

BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES (TRONCALES)
National Bank of Stem Cell Lines
IMPRESO DE SOLICITUD DE REGISTRO Y DEPÓSITO DE UNA LÍNEA iPS HUMANA
Application Form to Register and to Deposit a human iPS cell line

FECHA: 08.04.19

DOCUMENTOS QUE DEBEN ACOMPAÑAR LA SOLICITUD:

Attached documents:

- Copia de la autorización del proyecto en el cual se genera la línea celular, junto con informe favorable del Comité Ético del centro de procedencia.**
A copy of the project authorization in which the cell line is obtained along with a favourable report of the Clinical Research Ethics Committee
- Copia de cualquier publicación científica relacionada con la línea iPS generada.**
A copy of any relevant published scientific papers related to the iPS cell line generated
- C. V. del investigador principal (una página; formato libre).**
A one page CV from the Principal Investigator

SECCIÓN 1-INFORMACIÓN DE LA MUESTRA ORIGINAL Y DE LA iPS GENERADA.

Section 1-Information of the original cell line and the generated iPS

Nombre de la línea iPS <i>Name of the iPS line:</i>	BST PBiPS2-SV4F-6
Muestra original donada. Detallar tipo de célula, tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica de la que se obtiene la línea original. Si son células comerciales, detallar nombre, referencia y distribuidor comercial <i>Original sample donated. Detail cell type, tissue of origin and anatomic location of the biological sample from which the original line is obtained. If cells are commercial, detail name, reference and trade distributor.</i>	Células mononucleadas de sangre periférica <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Masculino, 62 años <i>Male, 62 years</i>
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco <input checked="" type="checkbox"/> Crioconservado <input type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> 30.10.2017	Fecha del uso o descongelación (<i>si congelado</i>) <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 30.10.2017
Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	Medio de cultivo/ Culture media: IMDM + 10%FBS + 0,5% Penicilin-Streptomycin (Gibco, InVitrogen corporation). 37°C- 5%CO2
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the original cells.</i>	Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5) <i>Microsatellite markers of the initial sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 5)</i>
¿Hay disponibilidad de viales congelados de las células de origen? ¿En qué pase? <i>Is there availability of frozen vials of original cells? At what passage?</i>	No
Método utilizado en la generación de la línea iPSc. (Integrativa/ No-integrativa) Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados. <i>Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	Generación de las células de pluripotencia inducida (iPSC) a partir de células mononucleadas de sangre periférica de un donante, con el kit de reprogramación CytoTune®-iPS 2.0 Sendai, un sistema no integrativo que utiliza vectores del virus Sendai. Este kit incluye tres vectores: policistrónico Klf4-hOct3/4-Sox2, cMyc y Klf4. <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from Peripheral Blood Mononuclear Cells from a donor with the CytoTune®-iPS 2.0 Sendai Reprogramming Kit, a non-integrating system that uses Sendai virus vectors. This kit includes three vector preparations: polycistronic Klf4-Oct3/4-Sox2, cMyc, and Klf4.</i>
Condiciones de cultivo de la línea de iPSc generada. (si se describen en publicación, indicar referencia) <i>iPS Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>	Support: human foreskin fibroblasts (ATCC, American Type Culture Collection, CCD1112Sk). Culture medium: Knockout Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 2 mmol/l GlutaMAX (Gibco, InVitrogen corporation), 0,05mmol/l 2-mercaptoethanol (Gibco, InVitrogen corporation), 10 ng/ml basic fibroblast growth factor (bFGF) (Invitrogen), 1% non-essential amino acids (Cambrex), 20% Knockout Serum Replacement (InVitrogen) y 0,5% Penicillin-Streptomycin (Gibco, InVitrogen corporation). Support: Matrigel (Corning BV) Culture medium: mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies)
Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo (forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma; otros) <i>Description of the morphological</i>	Colonias grandes poligonales, ligeramente aplanadas, de un tamaño entre 1- 3 mm de diámetro de diversas formas con bordes lisos. Células de tamaño uniforme y una elevada relación núcleo/citoplasma. <i>Large and flat polygonal colonies, with uniformly sized cells of 1-3 mm of</i>

<p><i>characteristics of the line in culture (form and size of the colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</i></p>	<p><i>diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i></p>
<p>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p>	<p>La congelación de los clumps de colonias se ha realizado en FBS(90%) + DMSO(10%), %, mediante congelador programable (-0.5°C/min.) o mediante contenedor de isopropanol a -80°C (-1°C/min.). Los viales se han descongelado a 37°C mediante descongelación rápida.</p> <p><i>The clumps of colonies were cryopreserved in FBS(90%)+ DMSO (10%), by programmable freezer (-0.5°C/min.) or in isopropanol containers at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.</i></p>
<p>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15) <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>Viales congelados a pases 3-13</p> <p>Frozen vials at passages 3-13</p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i></p> <p>Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Comentarios/ Comments:</p>	<p>¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i></p> <p>Sí/ Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> Resultado / Result</p>

SECCIÓN 2 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE LA LÍNEA iPS.
Adjuntar resultados (imágenes o gráficos) como anexo

Section 2 iPS Cell Line characterization results. Attach results (images and graphics) as an annex

<p>Test de pluripotencia <i>Pluripotency test</i></p> <p>Anexo 1 <i>Annex 1</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Método <i>Method</i></th> <th>Nº pase <i>Passage n.</i></th> <th>Resultado <i>Results</i></th> <th>Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Oct 4 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nanog inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sox 2 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA3 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA4 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-60 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-81 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fosfatasa. Alk actividad</td> <td>10</td> <td>+</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Oct 4 inmunocitoq.	11	+		Nanog inmunocitoq.	11	+		Sox 2 inmunocitoq.	11	+		SSEA3 inmunocitoq.	11	+		SSEA4 inmunocitoq.	11	+		TRA-1-60 inmunocitoq.	11	+		TRA-1-81 inmunocitoq.	11	+		Fosfatasa. Alk actividad	10	+	
Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																		
Oct 4 inmunocitoq.	11	+																																			
Nanog inmunocitoq.	11	+																																			
Sox 2 inmunocitoq.	11	+																																			
SSEA3 inmunocitoq.	11	+																																			
SSEA4 inmunocitoq.	11	+																																			
TRA-1-60 inmunocitoq.	11	+																																			
TRA-1-81 inmunocitoq.	11	+																																			
Fosfatasa. Alk actividad	10	+																																			
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Método <i>Method</i></th> <th>Marcador <i>Marker</i></th> <th>Nº pase <i>Passage n</i></th> <th>Resultado <i>Results</i></th> <th>Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td>inmunocitoq. Tuj1</td> <td>7</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td>inmunocitoq. ASMA, ASA</td> <td>7</td> <td>+/+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td>inmunocitoq. AFP, FOXA2</td> <td>7</td> <td>+/+</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq. Tuj1	7	+		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA, ASA	7	+/+		Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunocitoq. AFP, FOXA2	7	+/+																	
Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																	
Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq. Tuj1	7	+																																		
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA, ASA	7	+/+																																		
Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunocitoq. AFP, FOXA2	7	+/+																																		
	<p>Mesodermo: cultivo de cuerpos embrioides (EBs) en medio de cultivo suplementado con ácido ascórbico. Endodermo: cultivo de cuerpos embrioides. Ectodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio N2/B27 (ver Anexo 2).</p> <p><i>Mesoderm: Embryoid bodies (EBs) cultured in culture medium supplemented with ascorbic acid. Endoderm: EBs culture. Ectoderm: EBs culture in N2/B27 (see Annex 2).</i></p>																																				

<p>Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Método <i>Method</i></th> <th>Marcador <i>Marker</i></th> <th>Nº pase <i>Passage n</i></th> <th>Resultado <i>Results</i></th> <th>Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td>inmunohist</td> <td>MAP2, GFAP, Neurof.</td> <td>21</td> <td>+ / + / +</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td>inmunohist.</td> <td>ASMA, ASA</td> <td>21</td> <td>+ / +</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td>inmunohist.</td> <td>AFP, FOXA2</td> <td>21</td> <td>+ / +</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunohist	MAP2, GFAP, Neurof.	21	+ / + / +		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	ASMA, ASA	21	+ / +		Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP, FOXA2	21	+ / +	
	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																				
Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunohist	MAP2, GFAP, Neurof.	21	+ / + / +																					
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	ASMA, ASA	21	+ / +																					
Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP, FOXA2	21	+ / +																					
<p>Descripción de las características de diferenciación <u>in vivo</u> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i></p>	<p>Inyección intratesticular en ratones SCID de 4•10 mill de células indiferenciadas y tras 8 semanas, análisis de los teratomas producidos mediante técnicas de inmunohistoquímica para ectodermo, mesodermo y endodermo (Anexo 3).</p> <p><i>4•10 mill of undifferentiated cells were injected into the testis of SCID mice. After 8 weeks, teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm (Annex 3).</i></p>																								
<p>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i></p>	<p>46, XY; p12</p>																								
<p>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de la línea celular <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the cell line</i></p>	<p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 5)</i></p>																								
<p>Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i></p>	<p><i>No procede, debido a que se trata un método no-integrativo</i></p> <p><i>Not applicable, due to non-integrating reprogramming methodology</i></p>																								
<p>Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>El análisis mediante q-RT-PCR mostró la ausencia de mRNA derivado de virus Sendai en la línea de iPSC y la presencia de mRNA derivado de virus Sendai en células control tras 1 semana de transducción (Anexo 6).</p> <p><i>The q-RT-PCR showed absence of Sendai virus derived mRNAs in iPSCs and presence of Sendai virus derived mRNAs in virus transduced control cells 1 week after transduction (Annex 6).</i></p>																								

Confirmación del diagnóstico genotípico en las iPSC generadas a partir de muestras con mutación genética <i>Confirmation of genotypic diagnosis of the cell line generated from samples with genetic mutation</i>	No procede <i>Not required</i>
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR (Anexo 7) <i>Negative by PCR (Annex 7)</i>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Bigas	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona
Centro de Trabajo: Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques	Teléfono (phone): 933160440 Fax: E-mail: anna.bigas1@gmail.com

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Núria Nogués	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Pg. Taulat, 116 08005 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Banc de Sang i Teixits	Teléfono (phone): 93 5573500 Fax: E-mail: nnogues@bst.cat

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Veiga Lluch	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l'Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB)	Teléfono (phone): 93 3160360 Fax: E-mail: blc@cmrb.eu

SECCIÓN 4 INFORMACIÓN ADICIONAL (OPCIONAL)
Section 4 Additional information (optional)

Otras observaciones o información relevantes (a juicio del Investigador Principal):
Other observations or relevant information (to the discretion of the Principal Investigator):

Las líneas de iPSCs humanas obtenidas en el marco del Proyecto PERIS “Regeneración hematopoyética a partir de células madre pluripotentes” (Ref. 04/2017) son portadoras de unos polimorfismos genéticos que determinan la expresión de un fenotipo eritrocitario de especial interés cuando se diferencian a linaje eritroide. La particularidad de su fenotipo eritrocitario radica, bien en la combinación de grupos sanguíneos expresados en forma homocigota, o bien en la ausencia de expresión de un grupo sanguíneo de alta prevalencia en la población. En ambos casos, tal como se expone en la memoria del proyecto, el interés en la generación de estas líneas celulares se basa en su uso potencial para la producción de hematíes “in vitro” que puedan ser utilizados como célula-reactivo en la identificación de anticuerpos eritrocitarios. Esta potencialidad está siendo evaluada en el marco del proyecto mencionado y datos preliminares apuntan a que estas líneas, y otras generadas con otros perfiles eritrocitarios pero con la misma finalidad, pueden ser parte de una futura colaboración con la industria en forma de partenariado para el desarrollo de un nuevo sistema de diagnóstico de la aloinmunización eritrocitaria. En este sentido, y para proteger la posible transferencia tecnológica a colaboradores industriales, tanto nacionales como internacionales, querríamos solicitar la posibilidad de que, aun estando registradas en el BNLC, la solicitud de estas líneas de iPSCs por parte de terceros, fuera notificada a la institución que las ha generado, en este caso, el Banc de Sang i Teixits de Catalunya, y su cesión fuera también validada por esta misma institución, una vez el BNLC aprobara, según sus propios criterios, la solicitud recibida de organizaciones externas.

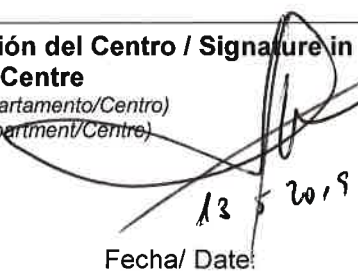
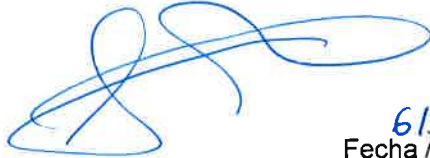
Otras observaciones o información relevantes (a rellenar por el BNLC):
Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)

Seguimiento de la línea (a rellenar por el BNLC):
Follow up of the line (to be completed by BNLC)



SECCIÓN 5 DECLARACIÓN

Confirmo que la información contenida en estos impresos es cierta y asumo total responsabilidad sobre la misma.

I confirm that the information contained in this form is true and I assume total responsibility for it.

Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>Legal Representative of the Department/Centre</i>  Fecha/ Date: 13/5/2019	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Fecha /Date: 6/5/2019
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Joaquim Bellmunt Molins	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona	Teléfono /Telephone: 933160780 Fax: 933160572 E-mail: jbellmunt@imim.es

Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>Legal Representative of the Department/Centre</i>  Fecha/ Date:	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Fecha /Date: 28/5/2019
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: Banc de Sang i Teixits <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Enric Argelagués Vidal. Director General	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Edifici Dr. Frederic Duran i Jordà Passeig Taulat, 106-116 08005 Barcelona	Teléfono /Telephone: 93 5573522 Fax: E-mail: eargelagues@bst.cat

<p>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>Legal Representative of the Department/Centre)</i></p>  <p style="text-align: right;">X</p> <p style="text-align: right;">Fecha/ Date: 12/06/19</p>	<p>Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i></p>  <p style="text-align: right;">13.VI.19.</p> <p style="text-align: right;">Fecha /Date</p>
<p>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Angel Raya. Director</p>	
<p>Dirección Postal: <i>Postal Address:</i></p> <p>Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l' Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona</p>	<p>Teléfono /Telephone: 93 3160320</p> <p>Fax:</p> <p>E-mail: gerencia@cmrb.eu</p>

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **BST PBiPS2-SV4F-6 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

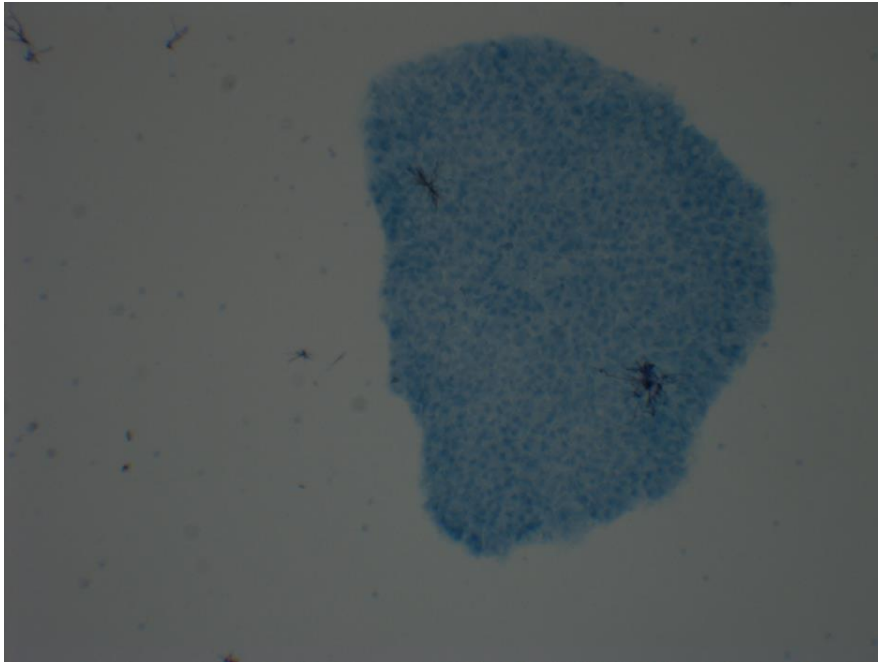
Anexo 5: Resultados microsatélites

Anexo 6: Ausencia de transgenes de reprogramación

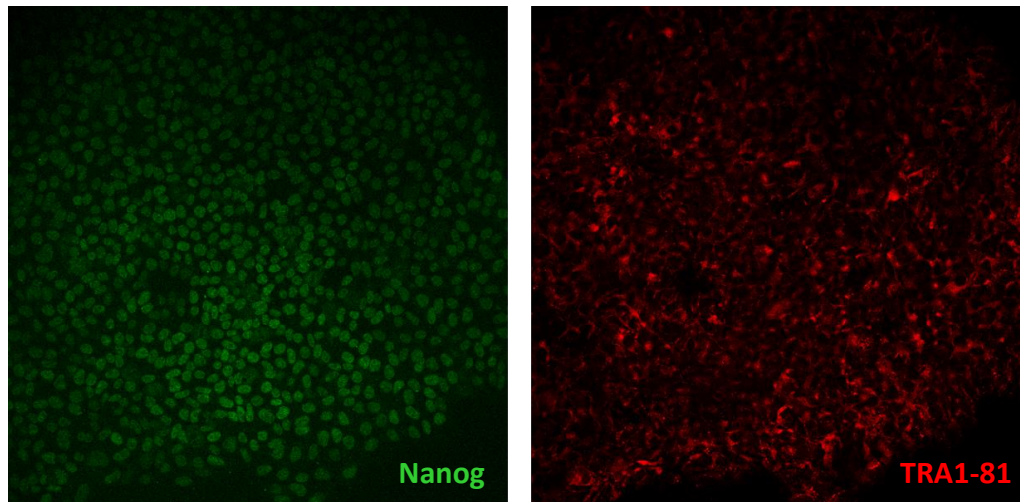
Anexo 7: Resultado test de micoplasma

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

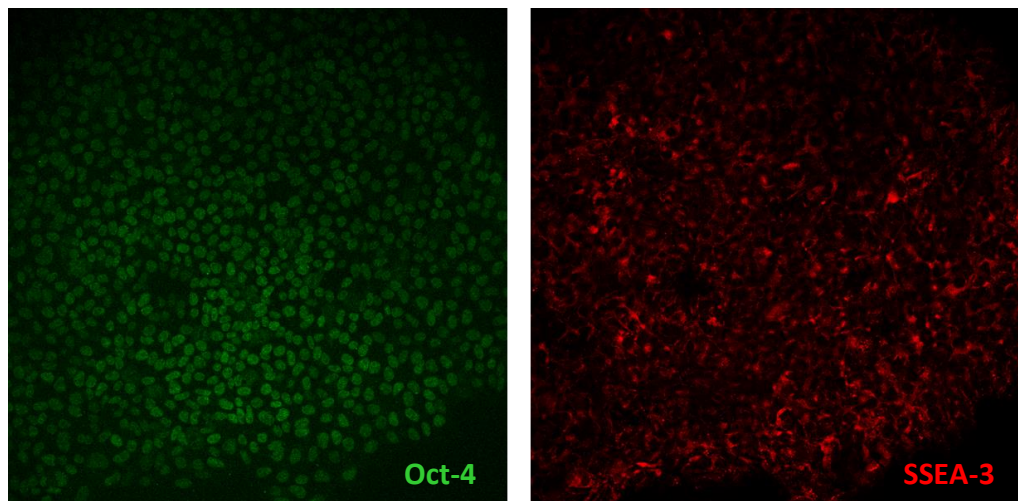


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



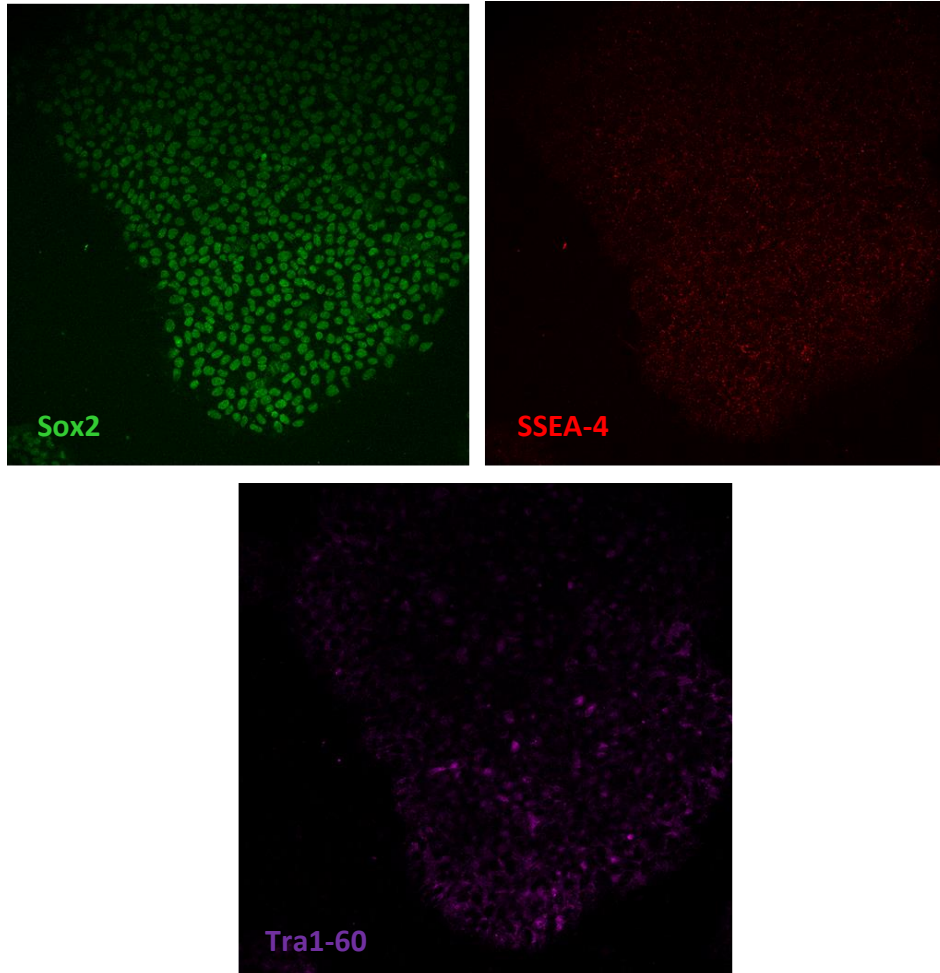
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3

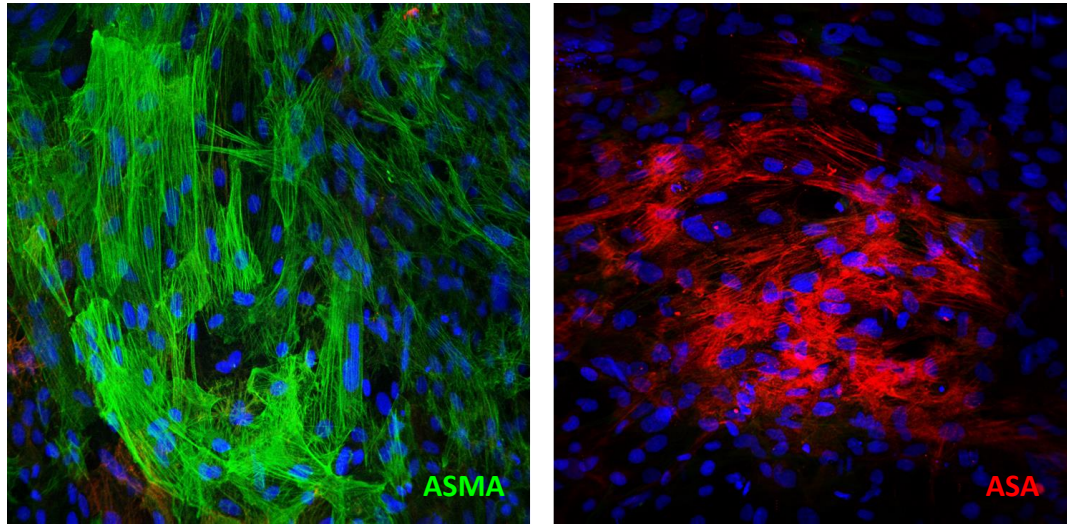


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

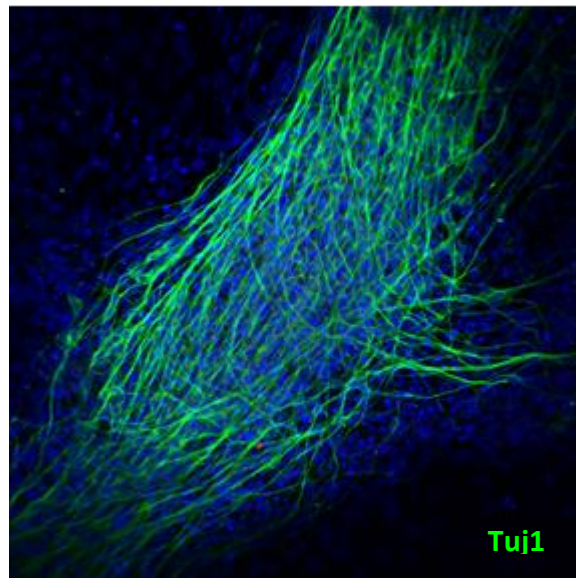
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 2

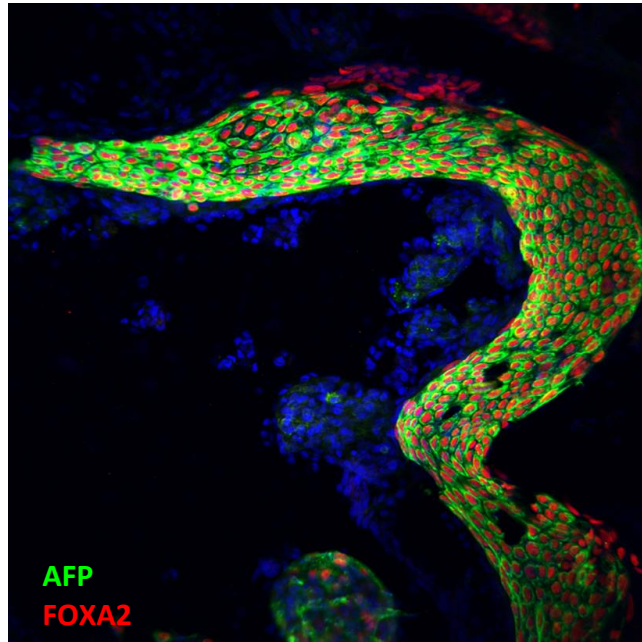
Diferenciación *in vitro*



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



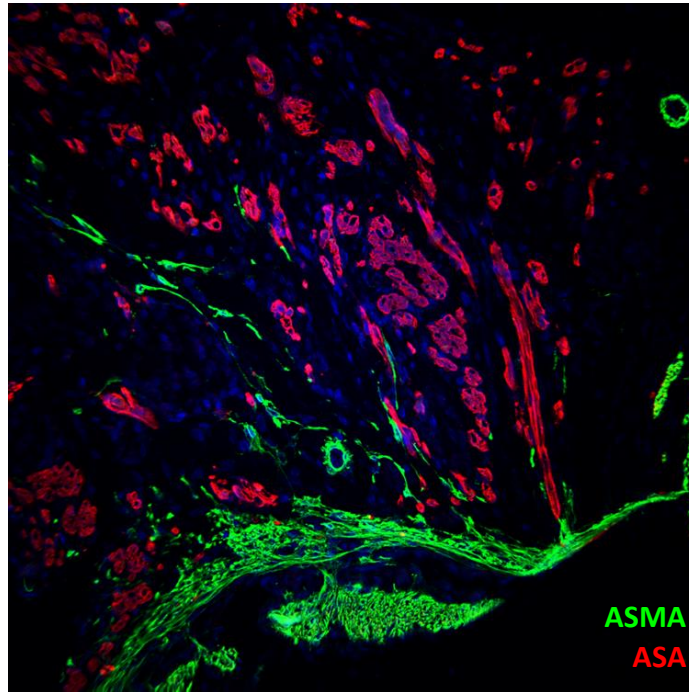
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1**.



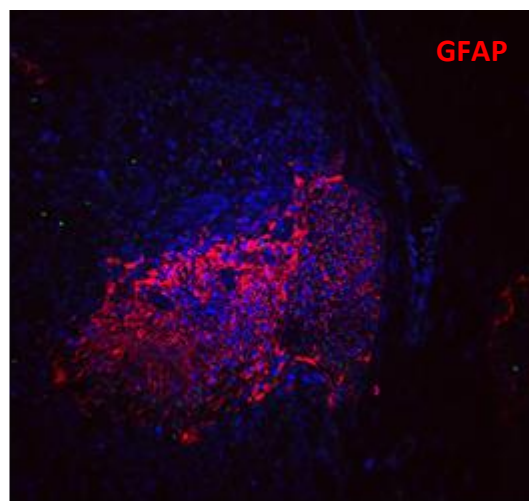
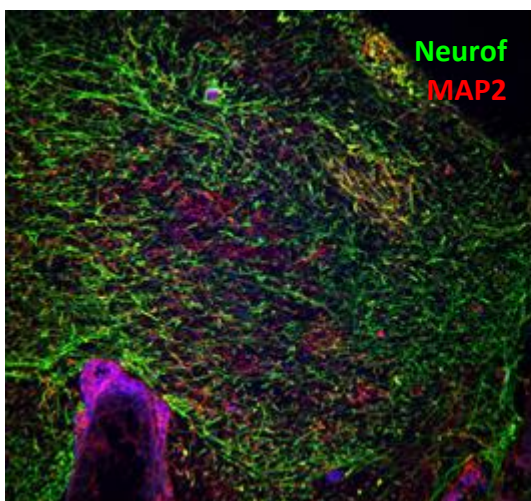
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**

Anexo 3

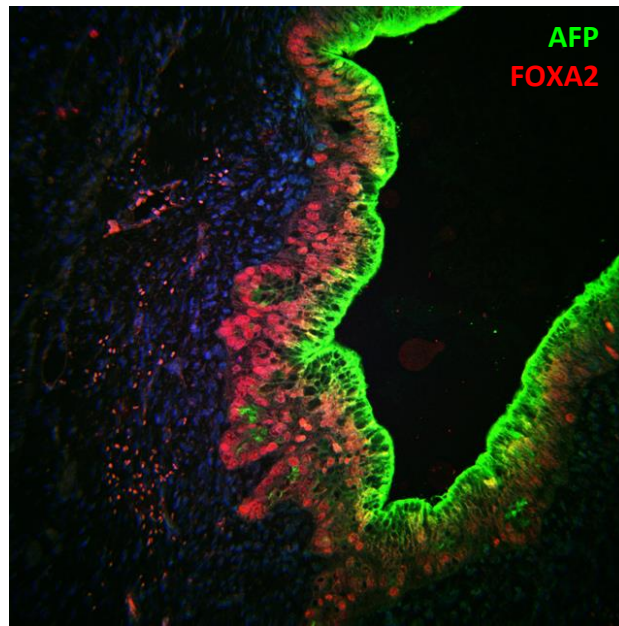
Diferenciación *in vivo*



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



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **MAP2**, **GFAP** y **Neurofilamento**.

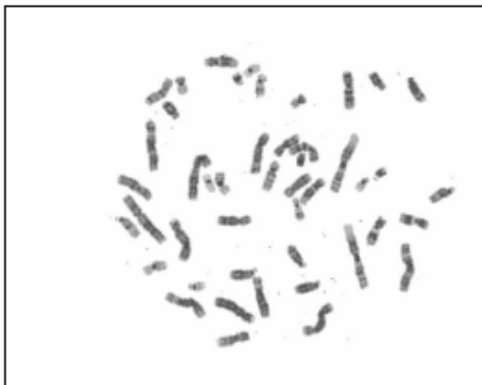
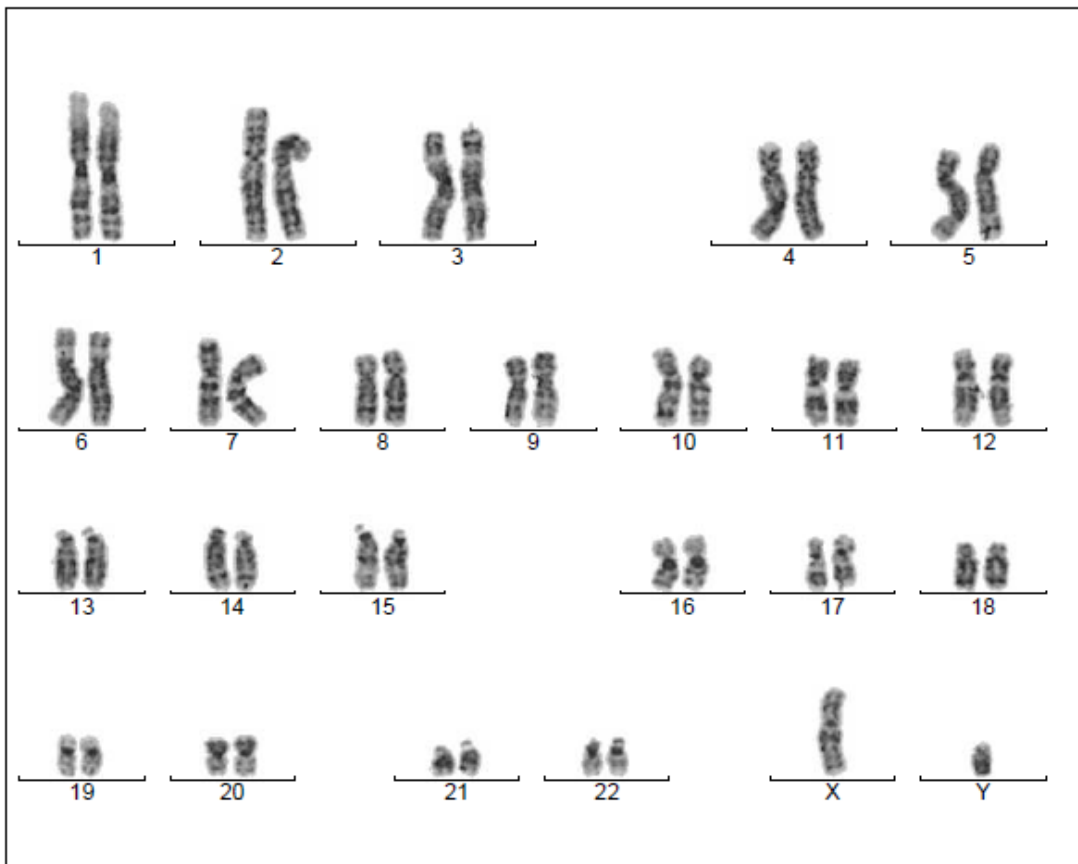


Diferenciación in vivo a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**

Anexo 4

Cariotipo

Cytogenetic analysis



Case name: 29836

Patient name: BST PBiPS2-Sv4F-6 p12

Specimen type: stem cells

Result: 46,XY

Anexo 5

Resultado microsatélites



Los resultados obtenidos son estudiados mediante el programa informático GeneMapper[®] 3.2. De acuerdo con la información suministrada por Promega[®] sobre su kit de amplificación GenePrint[®] 10 System, estos son los datos correspondientes de los alelos existentes para cada uno de los diferentes loci STR (figura1):



Table 5. The GenePrint[®] 10 System Allelic Ladder Information.

STR Locus	Label	Size Range of Allelic Ladder Components ^{a,2} (bases)	Repeat Numbers of Allelic Ladder Components
TH01	FL	156–195	4–9, 9.3, 10–11, 13.3
D21S11	FL	203–259	24, 24.2, 25, 25.2, 26–28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36–38
D5S818	JOE	119–155	7–16
D13S317	JOE	176–209	7–15
D7S820	JOE	215–247	6–14 ^b
D16S539	JOE	264–304	5, 8–15
CSF1PO	JOE	321–357	6–15
Amelogenin	TMR	106, 112	X, Y
vWA	TMR	123–171	10–22
TPOX	TMR	262–290	6–13

^aThe length of each allele in the allelic ladder has been confirmed by sequence analysis.

^bWhen using an internal lane standard, such as the Internal Lane Standard 600, the calculated sizes of allelic ladder components may differ from those listed. This occurs because different sequences in allelic ladder and ILS components may cause differences in migration. The dye label also affects migration of alleles.

^cHeLa cells have a microvariant allele 13.3 at the D13S317 locus. This will appear as an off-ladder allele (see www.ncbi.nlm.nih.gov/strbase/loci/D13S317.html#Tri1).

Figura 1. Información de la casa comercial Promega sobre la relación entre cada uno de los loci STR amplificados y las repeticiones (en rangos de tamaño y número) que pueden estar presentes en dichos productos de PCR.

RESULTADOS:

A continuación se indica el código de Biobanco para la muestra analizada y el código origen del ADN procesado de la línea celular:

Código Biobanco	Código origen de ADN
32180106002	BST PBiPS-2-Sv4F-6 p11 (09.03.18)

En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR.

Código origen del ADN de la línea celular	Loci STR analizados									
	AMEL	CSF1PO	D13S317	D16S539	D21S11	D5S818	D7S820	TH01	TPOX	vWA
BST PBiPS-2-Sv4F-6 p11 (09.03.18)	X, Y	11	11, 12	9, 12	29, 32.2	12, 13	9, 10	8, 9	8, 11	17, 18

Granada, a 26 de Marzo de 2018

Laboratorio de Biología Molecular
 Biobanco del SSPA

RESULTADOS:

A continuación se indica el código de Biobanco para la muestra analizada y el código origen del ADN procesado de la línea celular:

Código Biobanco	Código origen de ADN
32180078002	BST-PERIS 02

En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR.

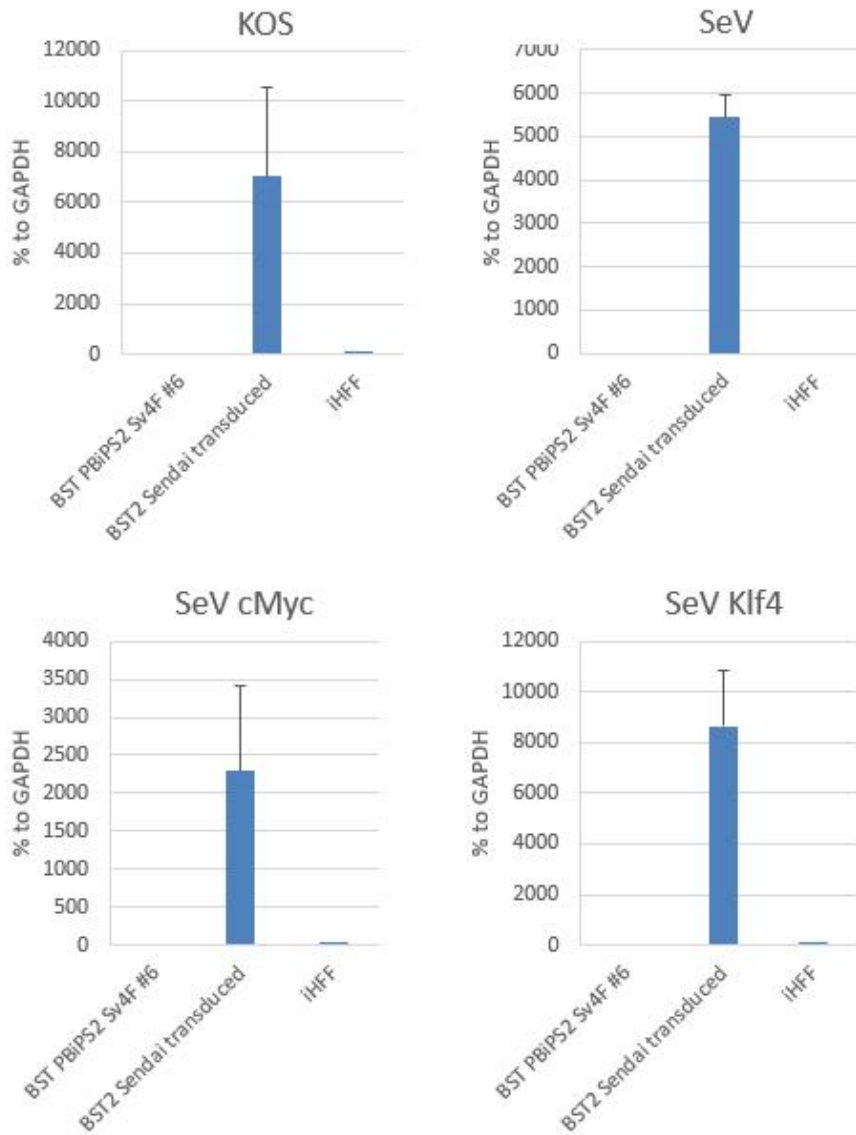
Código origen del ADN de la línea celular	Loci STR analizados									
	AMEL	CSF1PO	D13S317	D16S539	D21S11	D5S818	D7S820	TH01	TPOX	vWA
BST-PERIS 02	X, Y	11	11, 12	9, 12	29, 32.2	12, 13	9, 10	8, 9	8, 11	17, 18

Granada, a 19 de Febrero de 2018

Laboratorio de Biología Molecular
Biobanco del SSPA

Anexo 6

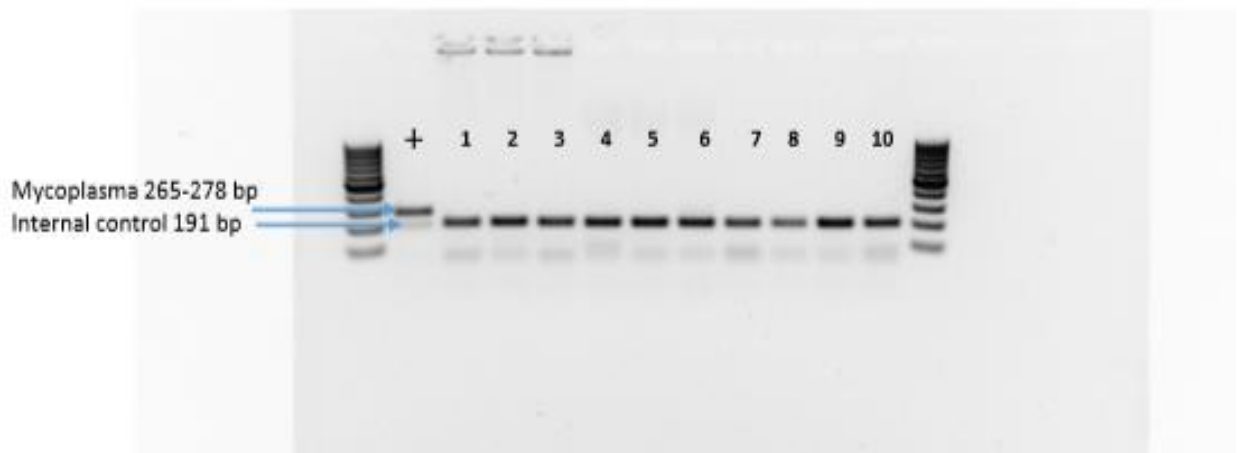
Ausencia de transgenes de reprogramación



Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por q-RT-PCR de la expresión de mRNAs de los transgenes en las iPSC generadas y en células control tras una semana de transducción. Se muestra expresión relativa a GAPDH.

Anexo 7

Resultado test de micoplasma



1. BST PBiPS 2-Sv4F-6, p14