

**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 Deposit of an human iPS cell line*

**FECHA:** 10/3/2017

**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 for 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*

<b>Nombre de la línea iPS</b> <i>Name of the iPS line:</i>	DUPSW FiPS301 R4F-1
<b>Muestra original donada.</b> <b>Detallar tipo de célula, tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica de la que se obtiene la línea original.</b> <b>Si son células comerciales, detallar nombre, referencia y distribuidor comercial</b> <i>Original sample donated.</i> <i>Detail cell type, tissue of origin and anatomic location of the biological sample from which the original line is obtained.</i> <i>If cells are commercial, detail name, reference and trade distributor.</i>	Fibroblastos de dermis procedentes de biopsia de piel.  <i>Dermal fibroblasts from skin biopsy.</i>
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino/ female      15 años/ 15 years
<b>¿El donante tiene alguna patología?</b> <i>Has the donor any pathological condition?</i>	<b>NO</b> <input type="checkbox"/> <b>SÍ</b> <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Williams-Beuren's syndrome <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>
<b>¿La patología es de origen genético?</b> <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	<b>NO</b> <input type="checkbox"/> <b>SÍ</b> <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) 7q.11.23 deletion <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>

<b>Muestra biológica recibida</b> <i>Biological sample</i>	<b>Fresco</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>Crioconservado</b> <input type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>
<b>Fecha de la donación de la muestra biológica</b> <i>Date of donation of the biological sample</i> 11.2.2013	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 17.3.2016
<b>Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario).</b> <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
<b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen</b> <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the original cells.</i>	Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)  <i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 5)</i>
<b>¿Hay disponibilidad de viales congelados de las células de origen? ¿En qué pase?</b> <i>Is there availability of frozen vials of original cells? At what passage?</i>	Si, 3 viales en p1; 10 viales en p2  Yes, 3 vials at p1; 10 vials at p2
<b>Método utilizado en la generación de la línea iPSc. (Integrativa/ No-integrativa) Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados.</b> <i>Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	Generación de las células pluripotenciales inducidas (iPSC) a partir de los fibroblastos de un paciente que presenta la delección 7q.11.23, mediante la estrategia retroviral con expresión ectópica de 4 factores de transcripción (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc). Mediante el uso de un plásmido retroviral (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) y un constructo tricistrónico (pMXsKLF4 MYCGFP)  <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from fibroblasts of a patient carrying 7q.11.23 deletion, by the retroviral strategy with ectopic expression of 4 transcription factors (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc), using the retroviral plasmid (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) and a tricistronic constructor (pMXsKLF4 MYCGFP).</i>
<b>Condiciones de cultivo de la línea de iPSc generada. (si se describen en publicación, indicar referencia)</b> <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, CCD112Sk). 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)

<p><b>Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo (forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma; otros)</b>  <i>Description of the morphological 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>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.</p> <p><i>Large and flat polygonal colonies, with uniformly sized cells of 1-3 mm of diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i></p>
<p><b>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación)</b>  <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 by isopropanol container at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.</i></p>
<p><b>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15)</b>  <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>p6-9</p>
<p><b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b>  <i>Has the line been genetically modified?</i>  <b>Sí Yes</b> <input type="checkbox"/> <b>No No</b> <input checked="" type="checkbox"/></p> <p><b>Comentarios/ Comments:</b></p>	<p><b>¿Se llevó a cabo un análisis clonal?</b>  <i>Has a clonal analysis been carried out?</i>  <b>Sí/ Yes</b> <input type="checkbox"/> <b>No</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>Resultado / Result</b></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><b>Test de pluripotencia</b> <i>Pluripotency test</i></p> <p>Anexo 1 <i>Annex 1</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th><b>Método</b> <i>Method</i></th> <th><b>Nº pase</b> <i>Passage n.</i></th> <th><b>Resultado</b> <i>Results</i></th> <th><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>Oct 4</b> inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>Nanog</b> inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>Sox 2</b> inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>SSEA3</b> inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>SSEA4</b> inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>TRA-1-60</b> inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>TRA-1-81</b> inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>Fosfatasa. Alk</b> actividad</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n.</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>	<b>Oct 4</b> inmunocitoq.	p8	+		<b>Nanog</b> inmunocitoq.	p8	+		<b>Sox 2</b> inmunocitoq.	p8	+		<b>SSEA3</b> inmunocitoq.	p8	+		<b>SSEA4</b> inmunocitoq.	p8	+		<b>TRA-1-60</b> inmunocitoq.	p8	+		<b>TRA-1-81</b> inmunocitoq.	p8	+		<b>Fosfatasa. Alk</b> actividad	p8	+	
<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n.</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>																																		
<b>Oct 4</b> inmunocitoq.	p8	+																																			
<b>Nanog</b> inmunocitoq.	p8	+																																			
<b>Sox 2</b> inmunocitoq.	p8	+																																			
<b>SSEA3</b> inmunocitoq.	p8	+																																			
<b>SSEA4</b> inmunocitoq.	p8	+																																			
<b>TRA-1-60</b> inmunocitoq.	p8	+																																			
<b>TRA-1-81</b> inmunocitoq.	p8	+																																			
<b>Fosfatasa. Alk</b> actividad	p8	+																																			
<p><b>Test de diferenciación in vitro</b> <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th><b>Método</b> <i>Method</i></th> <th><b>Marcador</b> <i>Marker</i></th> <th><b>Nº pase</b> <i>Passage n</i></th> <th><b>Resultado</b> <i>Results</i></th> <th><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i></td> <td>inmunocitoq. Tuj1/GFAP</td> <td>11</td> <td>+ / +</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i></td> <td>inmunocitoq. ASMA/ASA</td> <td>11</td> <td>+ / +</td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Marcador</b> <i>Marker</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>	<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq. Tuj1/GFAP	11	+ / +		<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA/ASA	11	+ / +		<b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i>																				
<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Marcador</b> <i>Marker</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>																																	
<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq. Tuj1/GFAP	11	+ / +																																		
<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA/ASA	11	+ / +																																		
<b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i>																																					
<p><b>Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i></b> <i>(espontánea/inducida)</i></p> <p><i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i></p>	<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 sobre células PA6 (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/B27on PA6 cells (see Annex 2).</i></p>																																				

<b>Test de diferenciación in vivo</b> <i>In vivo differentiation test</i>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="432 152 592 264"></th> <th data-bbox="592 152 735 264"> <b>Método</b>  <i>Method</i> </th> <th data-bbox="735 152 879 264"> <b>Marcador</b>  <i>Marker</i> </th> <th data-bbox="879 152 1023 264"> <b>Nº pase</b>  <i>Passage n</i> </th> <th data-bbox="1023 152 1166 264"> <b>Resultado</b>  <i>Results</i> </th> <th data-bbox="1166 152 1436 264"> <b>Comentarios</b>  <i>Comments</i> </th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="432 264 592 376"> <b>Ectodermo</b>  <i>Ectoderm</i> </td> <td data-bbox="592 264 735 376">           inmunohist.         </td> <td data-bbox="735 264 879 376">           TUJ1/GFAP         </td> <td data-bbox="879 264 1023 376">           11         </td> <td data-bbox="1023 264 1166 376">           +/+         </td> <td data-bbox="1166 264 1436 376"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 376 592 488"> <b>Mesodermo</b>  <i>Mesoderm</i> </td> <td data-bbox="592 376 735 488">           inmunohist.         </td> <td data-bbox="735 376 879 488">           ASMA/ASA         </td> <td data-bbox="879 376 1023 488">           11         </td> <td data-bbox="1023 376 1166 488">           +/+         </td> <td data-bbox="1166 376 1436 488"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 488 592 600"> <b>Endodermo</b>  <i>Endoderm</i> </td> <td data-bbox="592 488 735 600">           inmunohist.         </td> <td data-bbox="735 488 879 600">           AFP/FOXA2         </td> <td data-bbox="879 488 1023 600">           11         </td> <td data-bbox="1023 488 1166 600">           +/+         </td> <td data-bbox="1166 488 1436 600"></td> </tr> </tbody> </table>		<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Marcador</b> <i>Marker</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>	<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	TUJ1/GFAP	11	+/+		<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	ASMA/ASA	11	+/+		<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP/FOXA2	11	+/+	
	<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Marcador</b> <i>Marker</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>																				
<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	TUJ1/GFAP	11	+/+																					
<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	ASMA/ASA	11	+/+																					
<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP/FOXA2	11	+/+																					
<b>Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i></b>  <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	<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>																								
<b>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase)</b> <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	46 XX p7, p11 (Anexo4) (Annex 4)																								
<b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de la línea celular</b> <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the cell line</i>	<p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 5)</i></p>																								
<b>Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b> <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	<p>La PCR evidenció la integración de los 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc. (Anexo 6)</p> <p><i>Integration of the 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc was shown by PCR (Annex 6)</i></p>																								

<p><b>Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b>  <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>Se evidenció el silenciamiento de los 4 genes de reprogramación: Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc mediante qRT-PCR (Anexo 6)</p> <p><i>Silencing of reprogramming genes Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc has been shown by qRT-PCR (Annex 6)</i></p>
<p><b>Confirmación del diagnóstico genotípico en las iPSC generadas a partir de muestras con mutación genética</b>  <i>Confirmation of genotypic diagnosis of the cell line generated from samples with genetic mutation</i></p>	<p>Se presenta el detalle de la delección intersticial identificada en la banda 7q11.23 que coincide con la microdelección que presenta el paciente y que se ha descrito en la literatura como causante del Síndrome de Williams-Beuren (Anexo 7).</p> <p><i>Deletion in the band 7q11.23 has shown. This deletion is identical to the one present in the patient and has been described in literature as the cause of William-Beuren Syndrome (Annex 7).</i></p>
<p><b>Test de micoplasma Mycoplasma Test</b></p>	<p>Negativo por PCR (Anexo 8)</p> <p><i>Negative by PCR (Annex 8)</i></p>

**SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE**  
*Section 3 Applicant Details*

<p><b>Investigador Principal:</b>  <i>Principal Investigator:</i>  <b>Anna Veiga Lluch</b></p>	<p><b>Dirección Postal:</b>  <i>Postal address:</i>          CMRB          Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona</p>
<p><b>Centro de Trabajo:</b>  <i>Institution:</i>  <b>Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB)</b></p>	<p><b>Teléfono (phone):</b> 933160360  <b>Fax:</b> 933160301  <b>E-mail:</b> blc@cmrb.eu</p>

<p><b>Investigador Principal:</b>  <i>Principal Investigator:</i>  <b>Ivón Cuscó Martí</b></p>	<p><b>Dirección Postal:</b>  <i>Postal address:</i>  <b>Universitat Pompeu Fabra</b>          Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona</p>
<p><b>Centro de Trabajo:</b>  <i>Institution:</i>  <b>Universitat Pompeu Fabra</b></p>	<p><b>Teléfono (phone):</b> 933160855  <b>Fax:</b> 933160901  <b>E-mail:</b> ivon.cusco@upf.edu</p>

## **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):

**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):

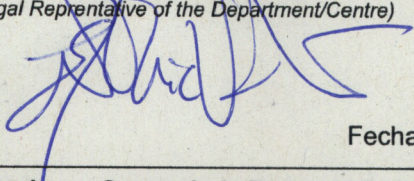
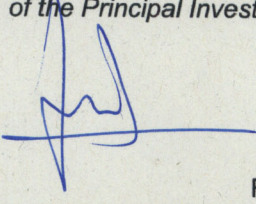
Follow up of the line (to be completed by BNLC)

**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.*

<p><b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b>          (Representante legal del Departamento/Centro)          Legal Representative of the Department/Centre)</p>  <p><b>Fecha/Date:</b> 19/1/2017</p>  <p><small>Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona          Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona          Center of Regenerative Medicine in Barcelona</small></p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b>          Signature of the Principal Investigator</p>  <p><b>Fecha/Date:</b> 19/1/2017</p>
<p><b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b>          Name and Position of the Person Representing the Centre:  <b>Ángel Raya Chamorro, Director</b>      NIF G-63687222</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b>          Postal Address:</p> <p><b>Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona</b>  <b>Doctor Aiguader, 88, 7ª planta, 08003, Barcelona</b></p>	<p><b>Teléfono /Telephone:</b> 933160303</p> <p><b>Fax:</b> 933160301</p> <p><b>E-mail:</b> gerencia@cmrb.eu</p>

<p><b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b>          (Representante legal del Departamento/Centro)          Legal Representative of the Department/Centre)</p>  <p><b>Fecha/Date:</b> 8/5/17</p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b>          Signature of the Principal Investigator</p>  <p><b>Fecha /Date</b></p>
<p><b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b>          Name and Position of the Person Representing the Centre:  <b>Enric Vallduví, Vicerrector de Investigación y Doctorado</b></p>	
<p><b>Dirección Postal:</b>          Postal Address:</p> <p><b>Universitat Pompeu Fabra</b>          Departament de Ciències Experimentals i de la Salut          Unitat de Genètica          Doctor Aiguader 88, 08003, Barcelona</p>	<p><b>Teléfono /Telephone:</b></p> <p><b>Fax:</b></p> <p><b>E-mail:</b></p>



# **ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR DUPSW FiPS301-R4F-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: Resultados microsatélites

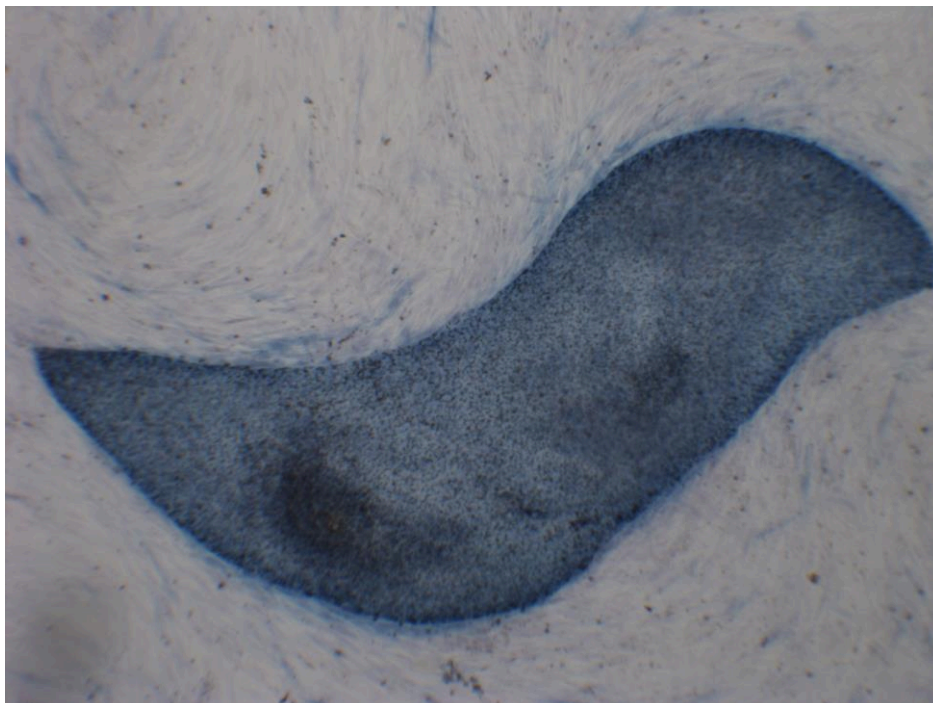
Anexo 6: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

Anexo 7: Genotipado

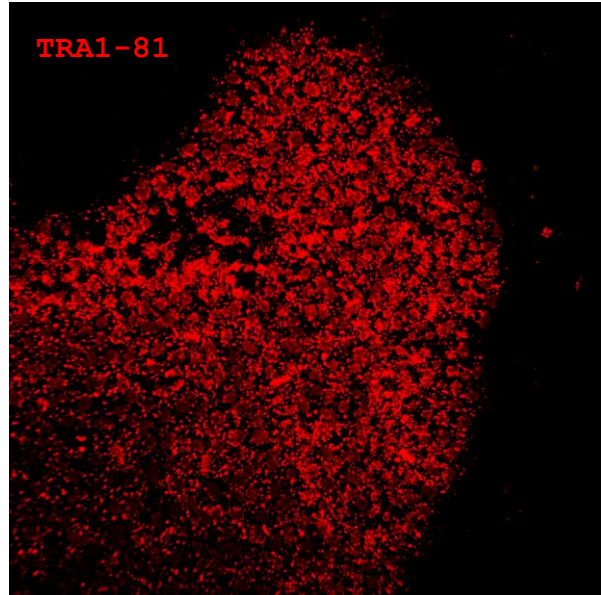
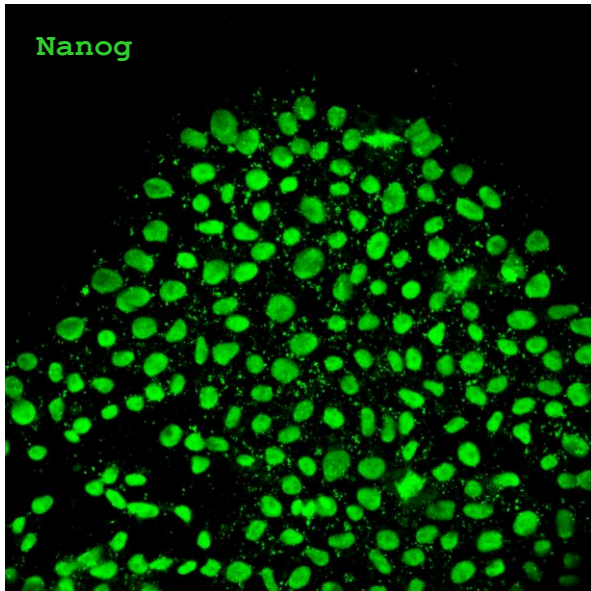
Anexo 8: Resultado test de micoplasma

## **Anexo 1**

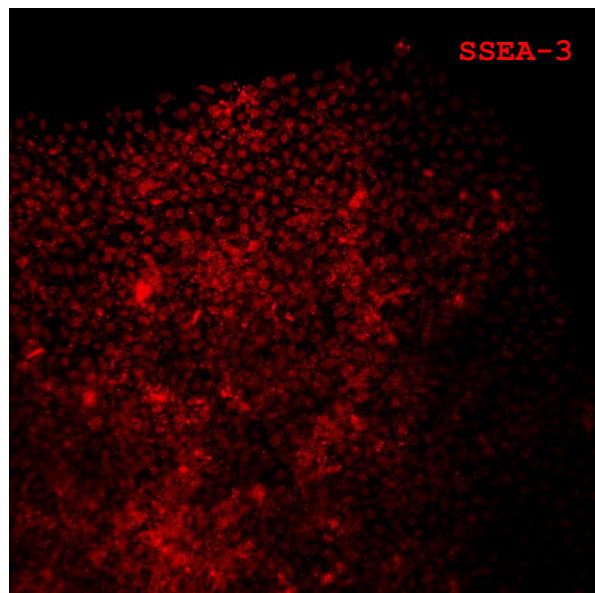
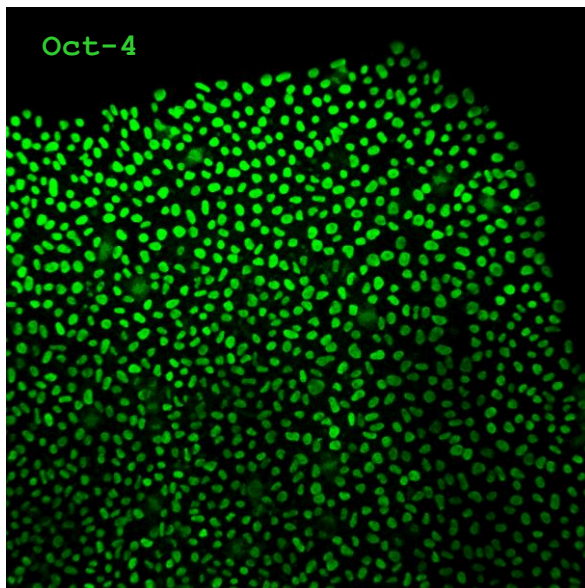
### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**



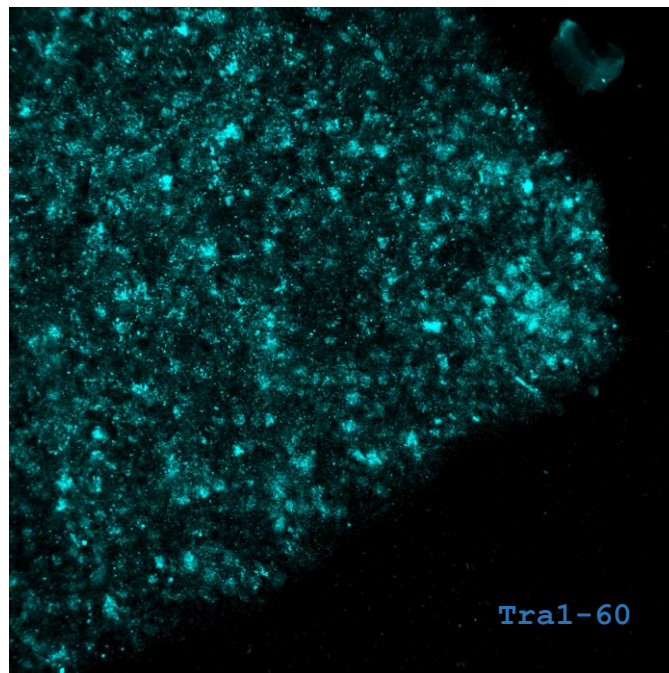
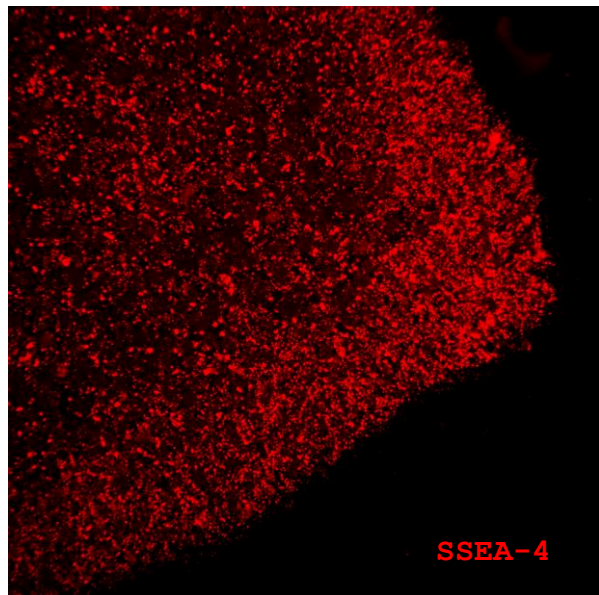
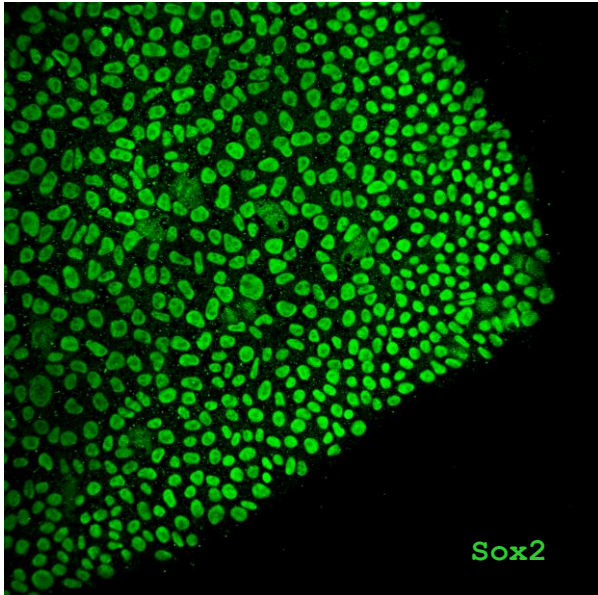
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



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**

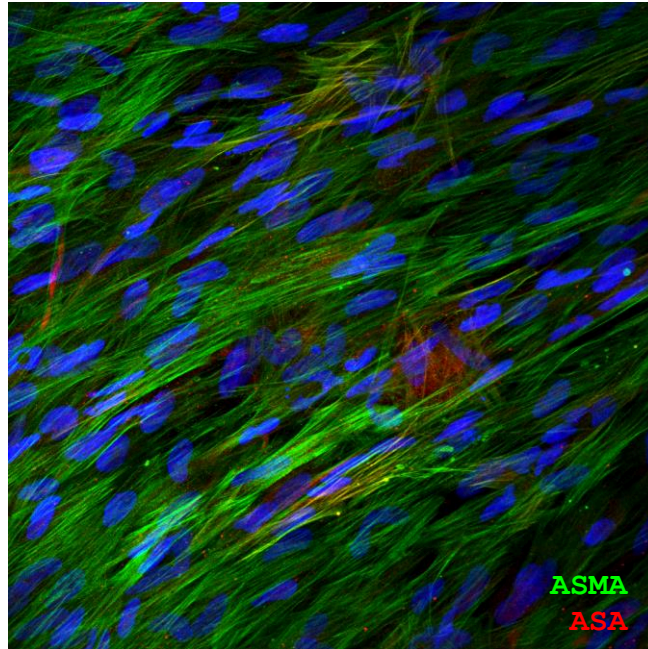


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

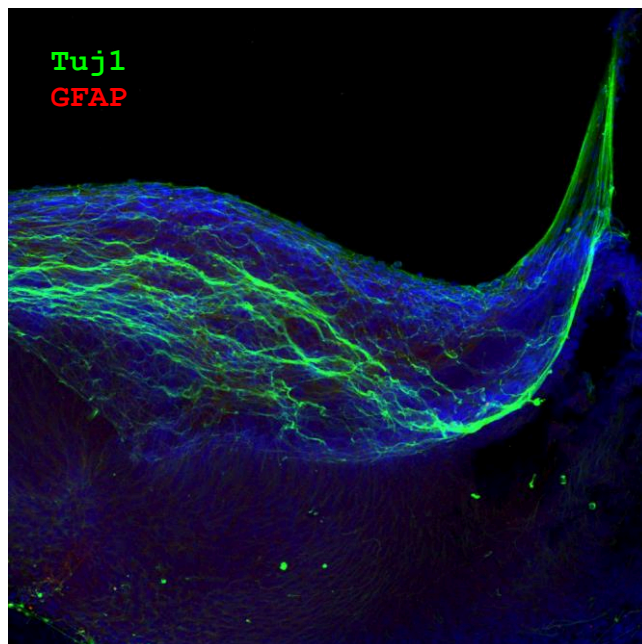
**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

## **Anexo 2**

### **Diferenciación *in vitro***



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

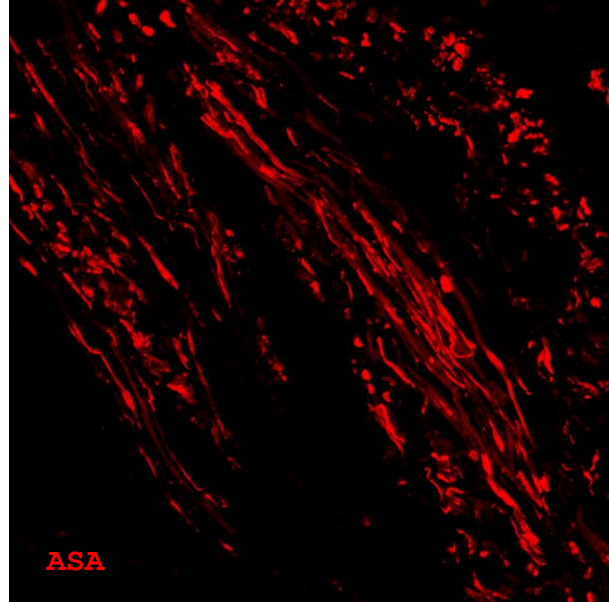
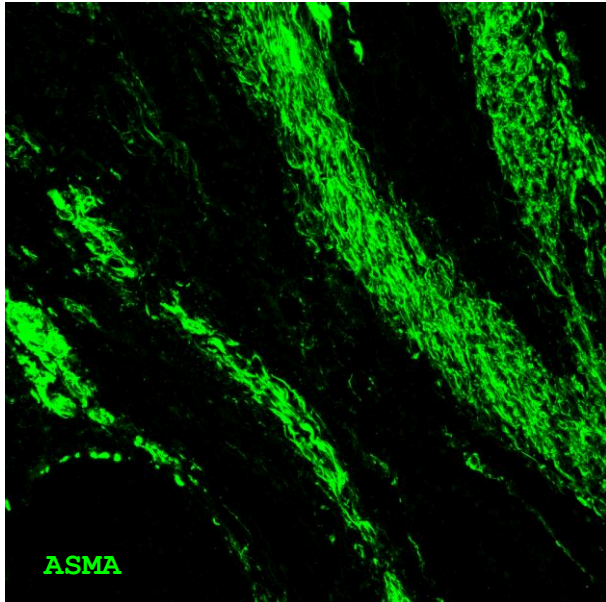


Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1 Y GFAP**

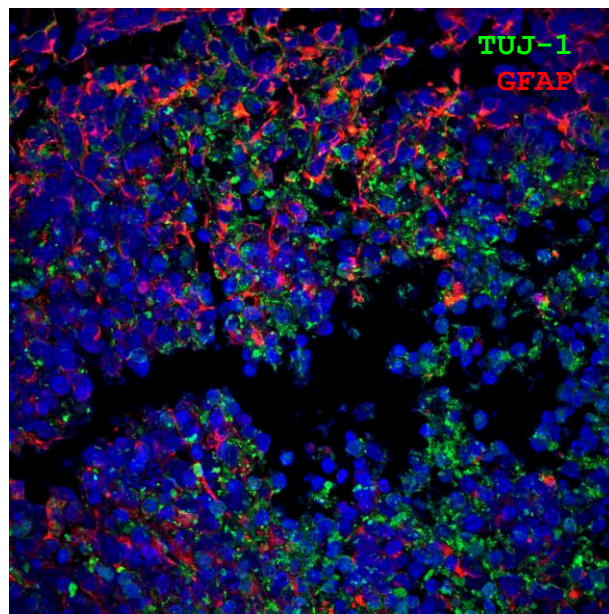


## **Anexo 3**

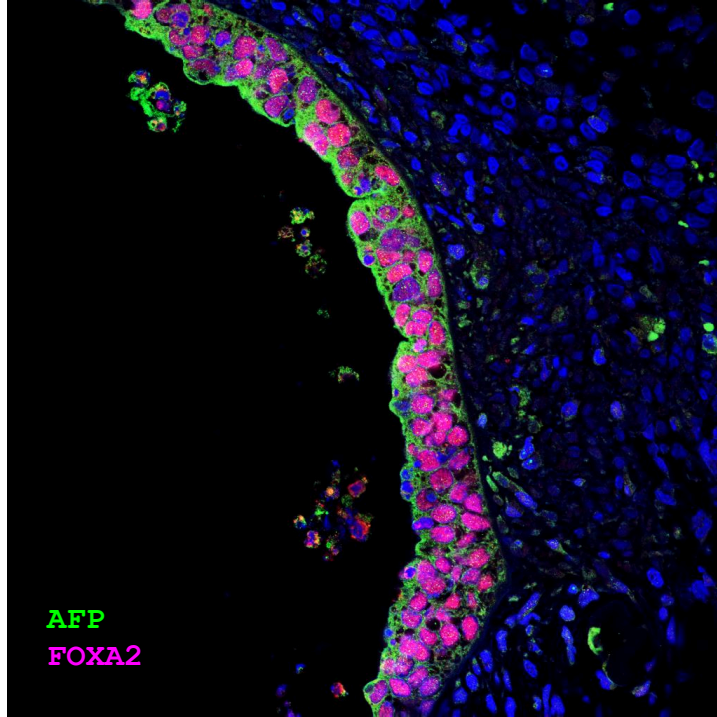
### **Diferenciación *in vivo***



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



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **TUJ1** y **GFAP**.

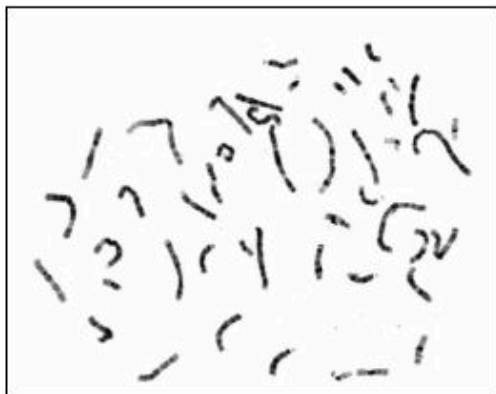
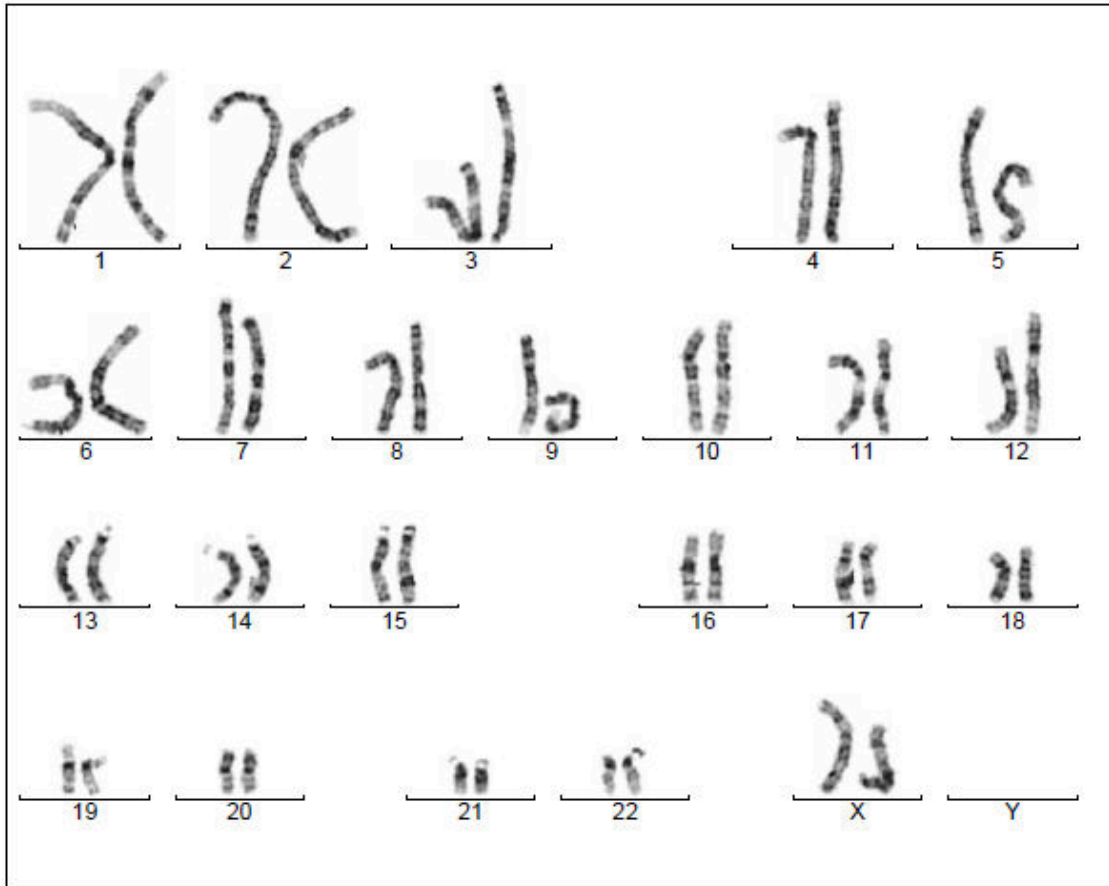


Diferenciación in vivo a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**

## **Anexo 4**

### **Cariotipo**

## Cytogenetic analysis



Case name: A178145

Patient name: DUPSW FiPS 301-R4F-1 p11

Specimen type: stem cells

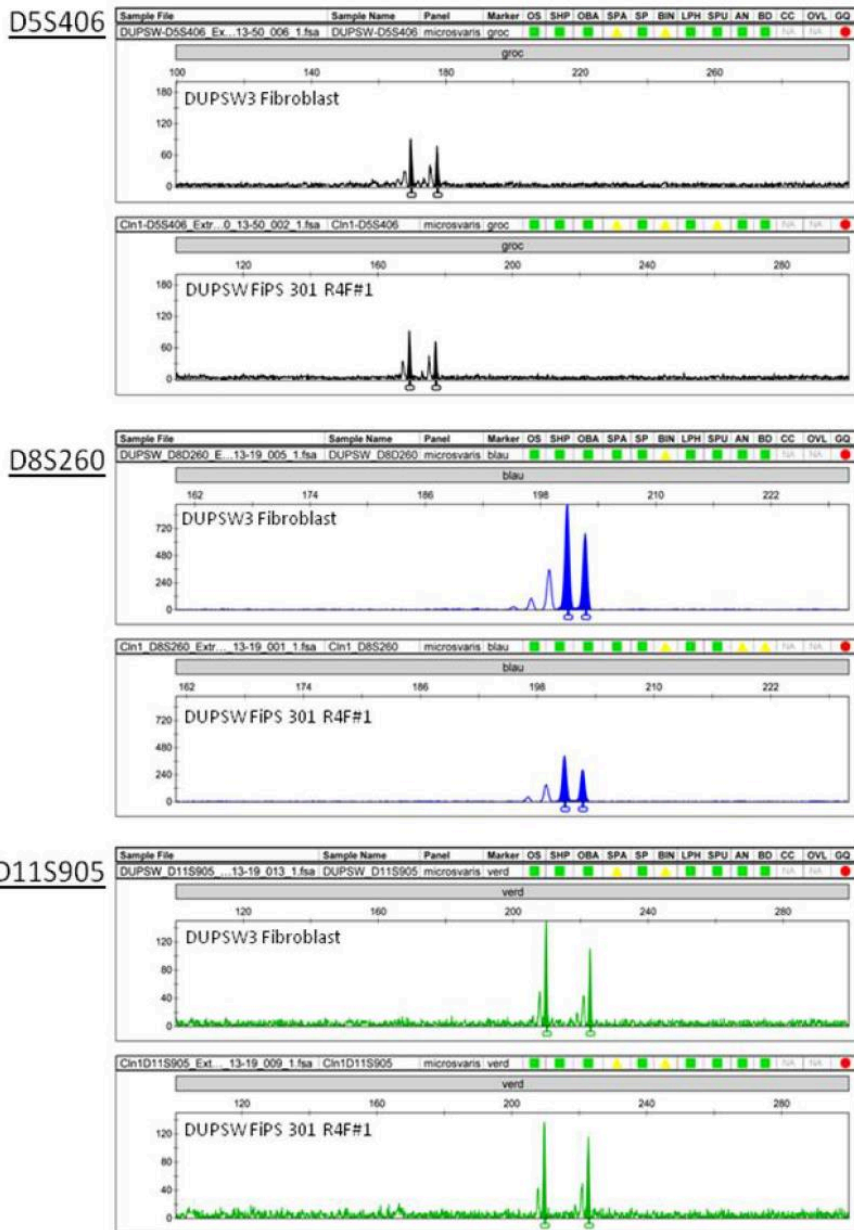
Result: 46,XX

## **Anexo 5**

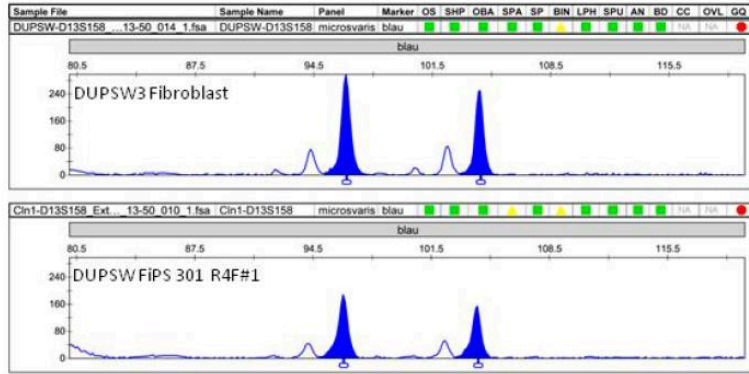
### **Resultado microsatélites**

## Caracterization of clone DUPSW FiPS 301 R4F#1

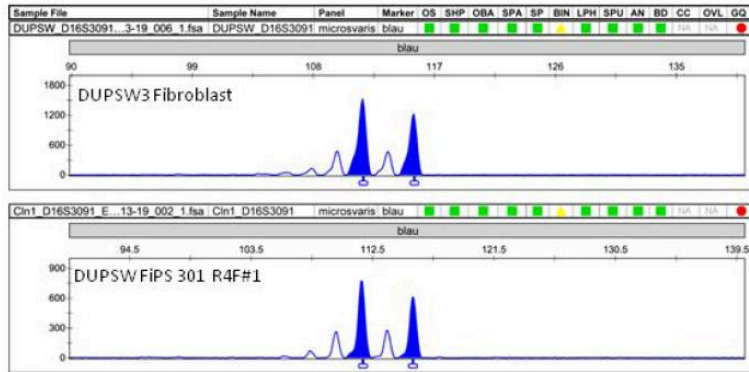
1) Microsatellite Study. Samples analyzed: Original Fibroblast and derived FiPs



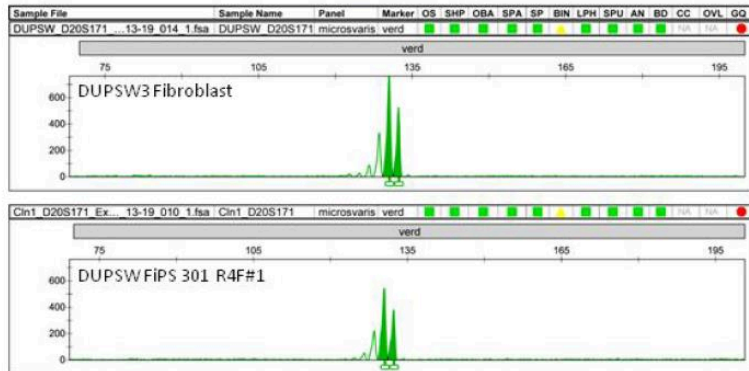
## D13S158



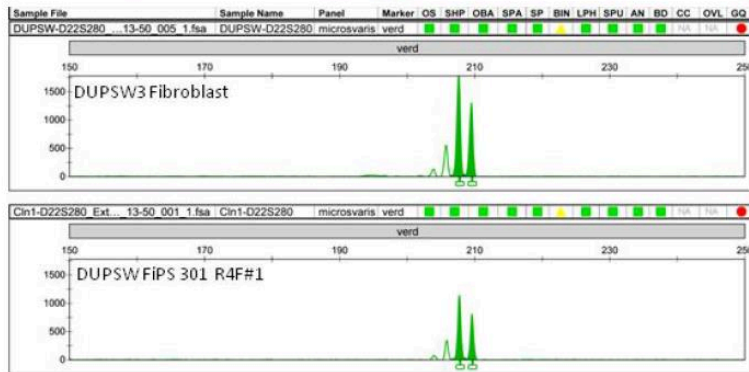
## D16S3091



## D20S171



## D22S280





## **Anexo 6**

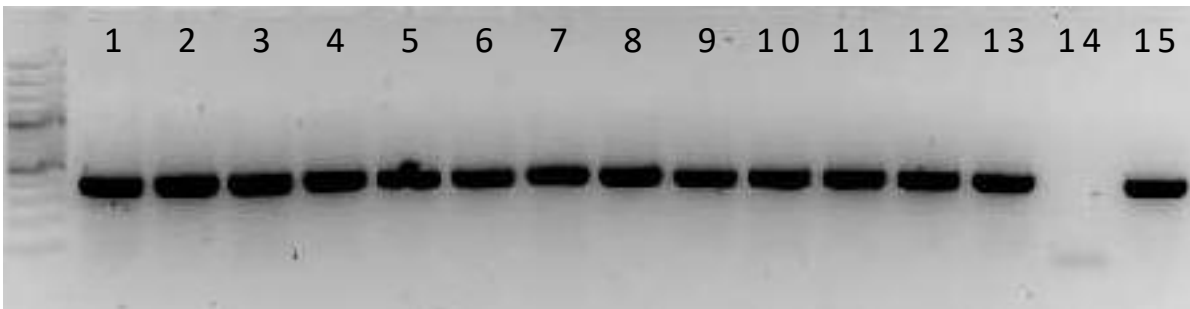
# **Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación**

**M16091**  
**Integration PCR**  
22/06/16

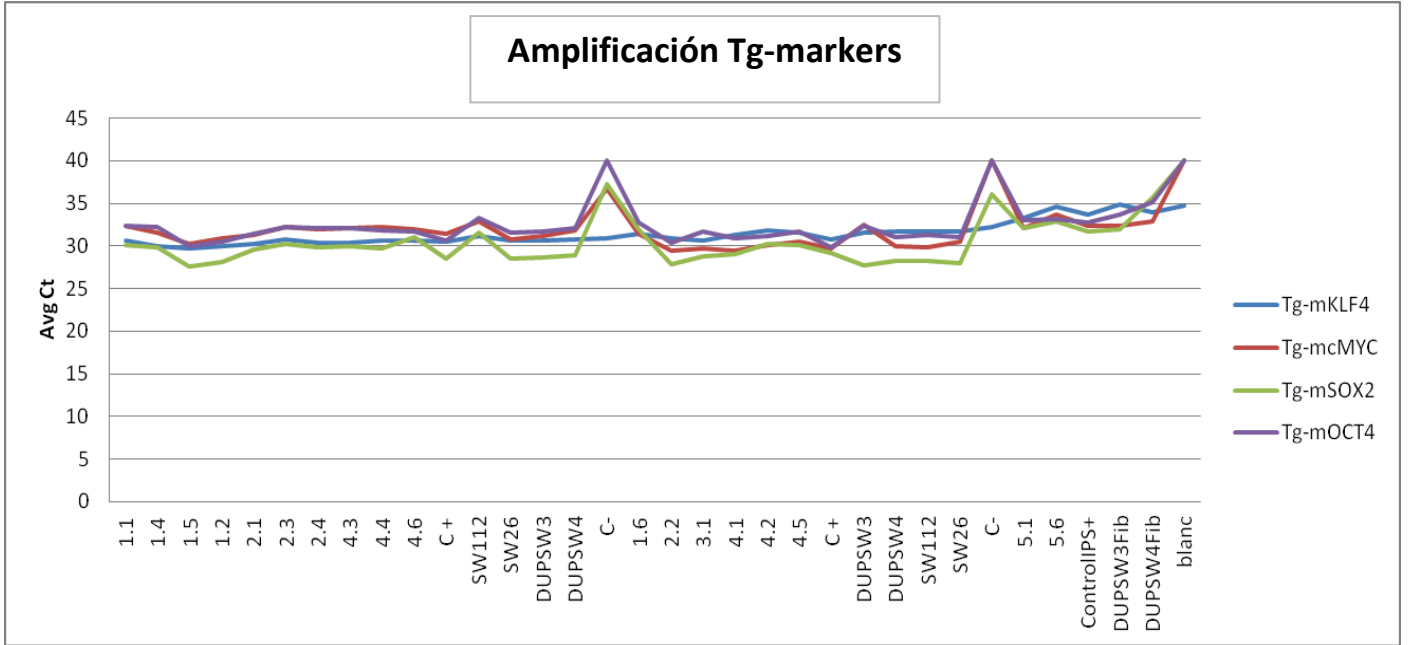
Oct4 – Sox2



Klf4 - cMyc



Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los genes utilizados para generar la línea.

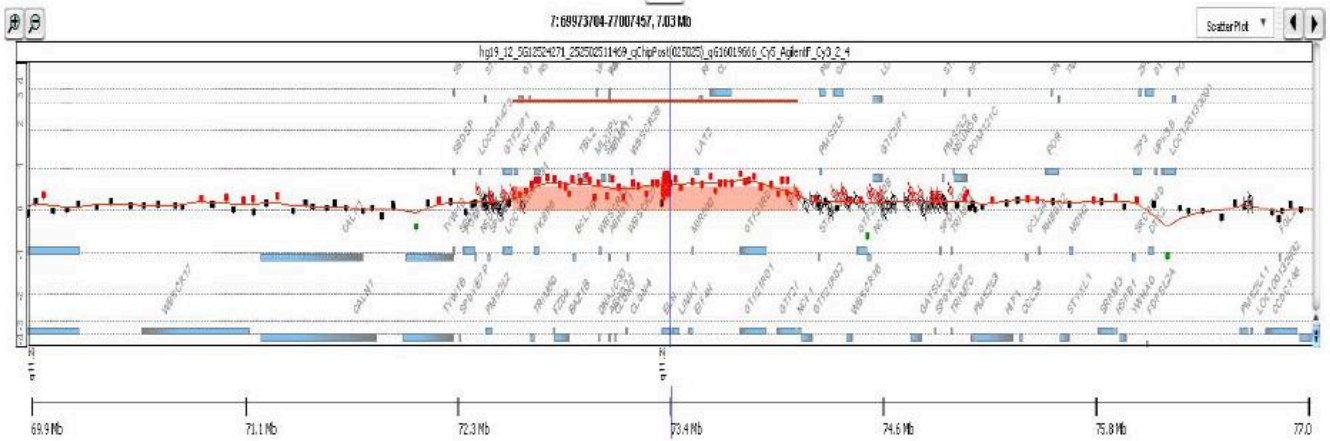


Silenciamiento de los transgenes de reprogramación. Análisis por Q-RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH

## **Anexo 8**

### **Genotipado**

## 2) Molecular Karyotyping showing the 1.5Mb duplication of 7q11.23 model by CGH array in the IPs.



## **Anexo 7**

### **Resultado test de micoplasma**

