

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: 23/06/2015

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

Nombre de la línea iPS <i>Name of the iPS line:</i>	[PD]FiPS006-4F-11
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>	Fibroblastos procedentes del Hôpital de la Pitié-Salpêtrière (CRicm UPMC INSERM UMR-S975) (38785 3895 FPD SAL PAL 125 006), procedentes de un paciente con Enfermedad de Parkinson. Fibroblasts from Hôpital de la Pitié-Salpêtrière (CRicm UPMC INSERM UMR-S975) (38785 3895 FPD SAL PAL 125 006), from a patient with Parkinson's disease.
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino /female 53
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Parkinson's disease (PD) No Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) PINK1 Q456Xhom No Yes (specify)

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco <input type="checkbox"/> Crioconservado <input checked="" 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> 05.04.2011	Fecha del uso o descongelación (<i>si congelado</i>) <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 29.04.2011
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
¿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>	si, p4-p6 yes, p4-p6
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 una línea de células de pluripotencia inducida (iPS) a partir de fibroblastos procedentes de un paciente con PD (PINK1 Q456Xhom) usando una infección retroviral con los siguientes factores de transcripción: Oct-4, Sox2, Klf-4 y c-Myc. Vectores utilizados: pMSCV-FLAG-hOCT4, pMSCV-FLAG-hKLF4, pMSCV-FLAG-hcMyc, pMSCV-FLAG-hSOX2. Generation of a induced pluripotent stem cell line (iPS) with the fibroblasts from a patient with PD (PINK1 Q456Xhom) using a retroviral infection with the selected transcription factors: Oct-4, Sox2, Klf-4 and c-Myc. Vectors used: pMSCV-FLAG-hOCT4, pMSCV-FLAG-hKLF4, pMSCV-FLAG-hcMyc, pMSCV-FLAG-hSOX2.
Condiciones de cultivo de la línea de iPSc generada. (si se describen en publicación, indicar referencia) <i>iPSC 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 characteristics of the line in culture (form and size of the colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</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. 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.

<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 durante unos minutos 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 at 37°C for some minutes.</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>p6-p22</p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes <input checked="" type="checkbox"/> No No <input type="checkbox"/> Comentarios/ Comments:</p>	<p>¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i> 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

Test de pluripotencia <i>Pluripotency test</i>	Método Comentarios	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	<i>Comments</i>
Anexo 1 Annex 1					
Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i>	Comentarios <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	<i>Comments</i>
Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i> <i>(espontánea/inducida)</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i>					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 (Anexo 2). Mesoderm: Embryoid bodies (EBs) cultured in culture medium supplemented with ascorbic acid. Endoderm: EBs culture. Ectoderm: EBs culture in N2/B27on PA6 cells (Annex 2).

<p>Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="440 152 608 241">Comentarios</th> <th data-bbox="608 152 751 241">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="751 152 895 241">Marcador <i>Marker</i></th> <th data-bbox="895 152 1038 241">Nº pase <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1038 152 1442 241">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1442 152 1442 241"><i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="440 241 608 405">Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 405 608 495">Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 495 608 600">Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	<i>Comments</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>						Mesodermo <i>Mesoderm</i>						Endodermo <i>Endoderm</i>					
Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	<i>Comments</i>																				
Ectodermo <i>Ectoderm</i>																									
Mesodermo <i>Mesoderm</i>																									
Endodermo <i>Endoderm</i>																									
<p>Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i></p>																									
<p>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i></p>	<p>46 XX Anexo 3 Annex 3</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 de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada. (Anexo 4)</p> <p>Microsatelites markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 4)</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>La qPCR evidenció la integración de los 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-myc. (Anexo 5)</p> <p>Integration of the 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-myc was shown by qPCR (Annex 5)</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>Se evidenció el silenciamiento de los 4 genes de reprogramación: Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc. (Anexo 5)</p> <p>Silencing of reprogramming genes Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc has been shown (Annex 5)</p>
<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></p>	<p>La línea de iPSC generada presenta la mutación Q456Xham en el gen PINK1, que también presentan los fibroblastos de los que procede (Anexo 6)</p> <p>The iPSC line shows the Q456Xham mutation in PINK1 as the fibroblasts from origin (Annex 6)</p>
<p>Test de micoplasma Mycoplasma Test</p>	<p>Negativo por PCR (Anexo 7)</p> <p>Negative by PCR (Annex 7)</p>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

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

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: 23/06/2015	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Fecha /Date 23/06/2015
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Margarita Sala Azón, Gerente 	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona Doctor Aiguader, 88, 7ª planta, 08003, Barcelona	Teléfono /Telephone: 933160303 Fax: 933160301 E-mail: gerencia@cmrb.eu

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR [PD]FiPS006-4F-11 EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

Anexo 4: Estudio microsatélites

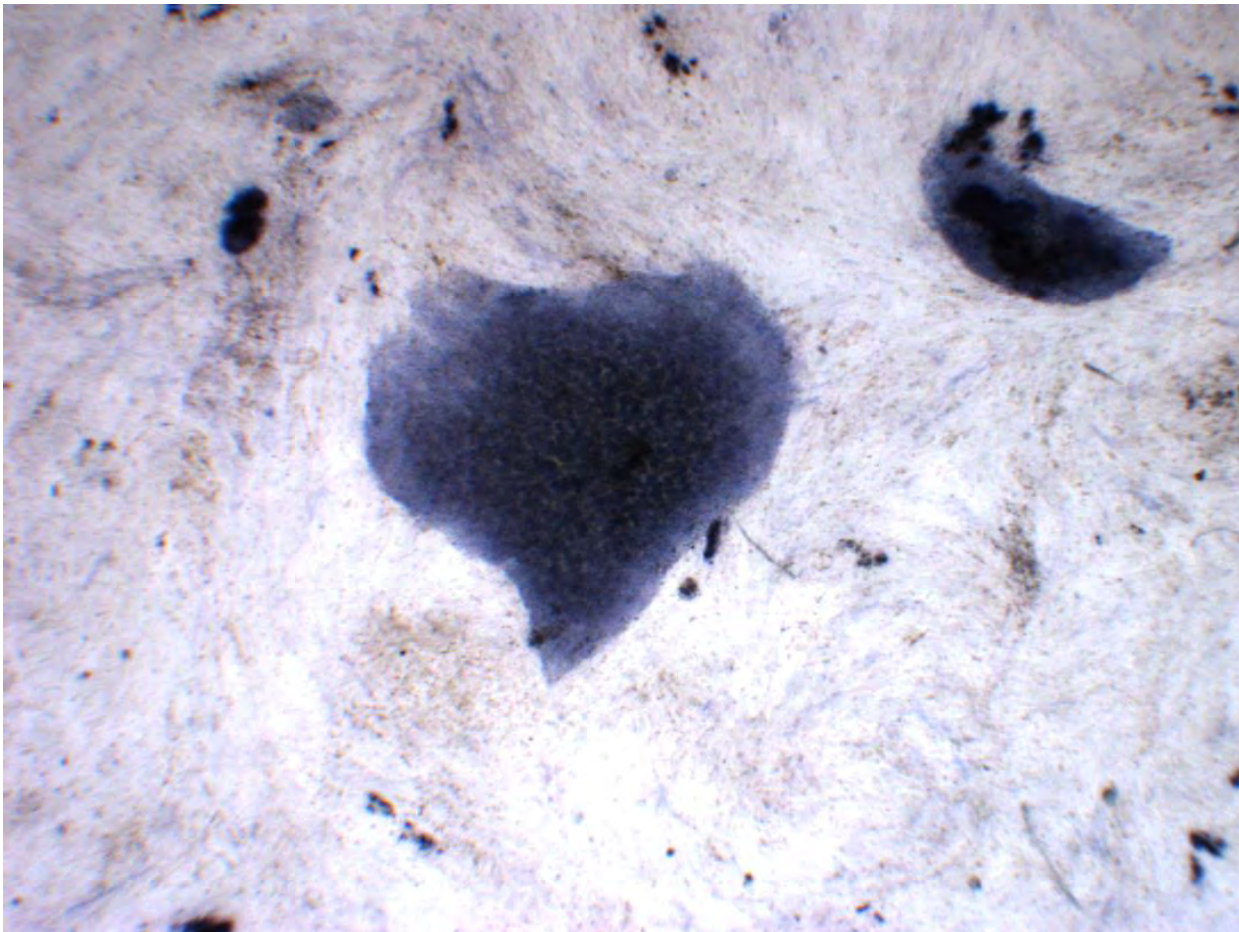
Anexo 5: Test de integración y de silenciamiento

Anexo 6: Genotipación de la línea

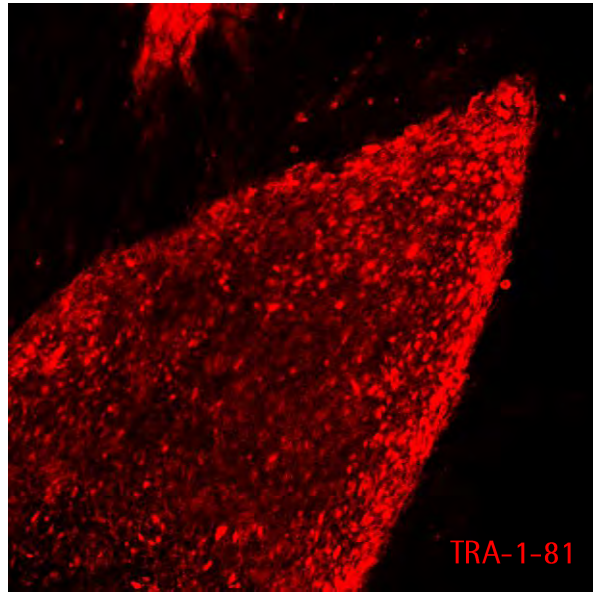
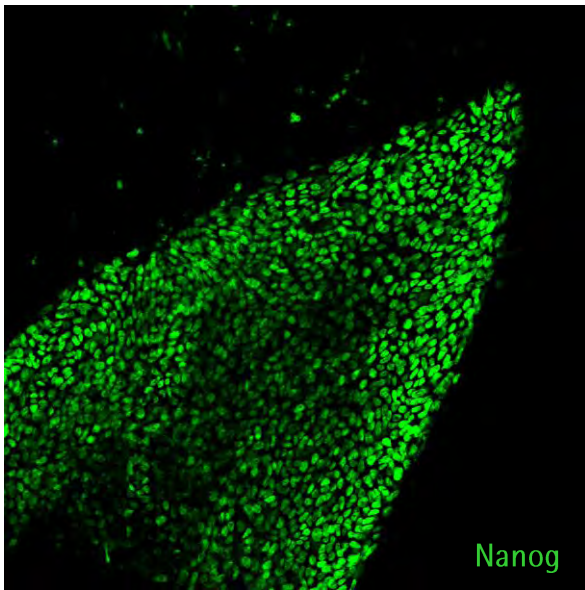
Anexo 7: Test de mycoplasma

Anexo 1

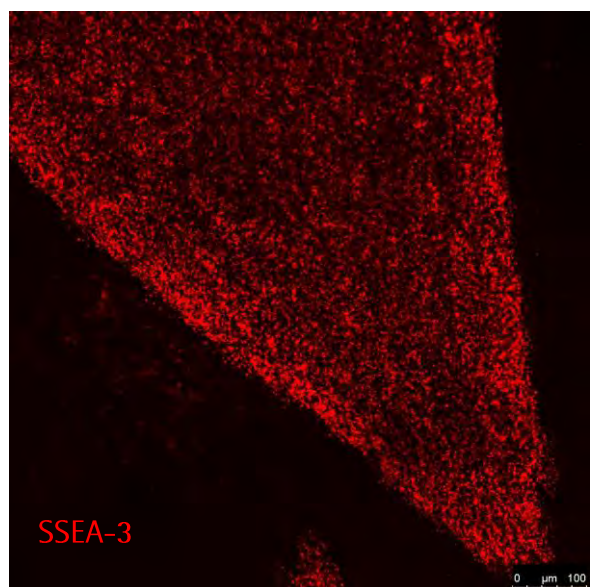
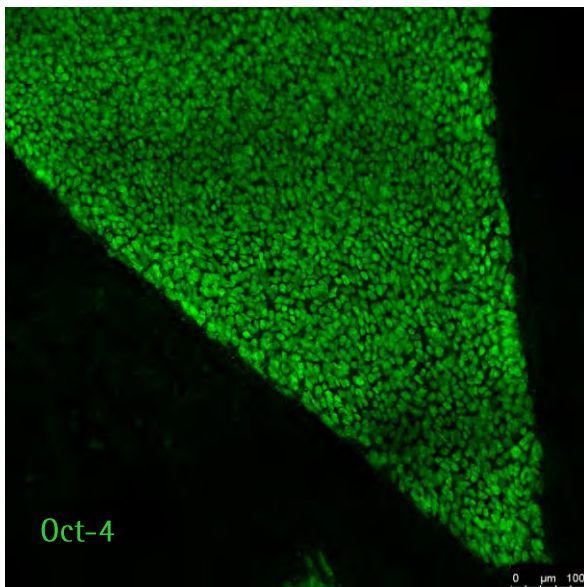
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia



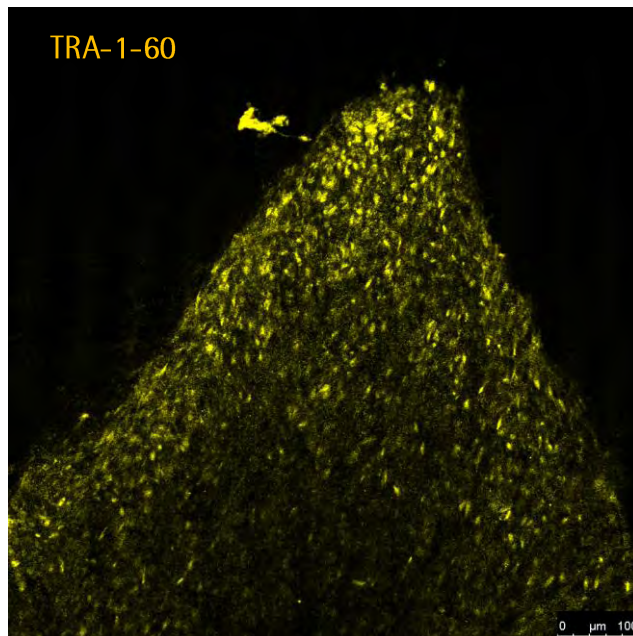
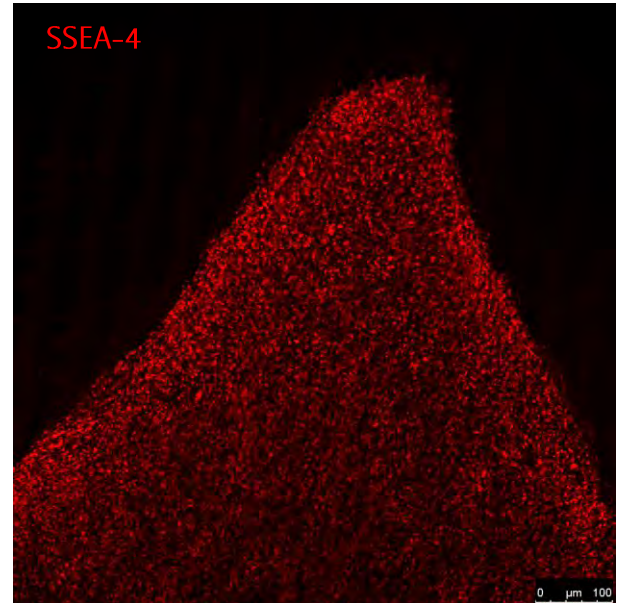
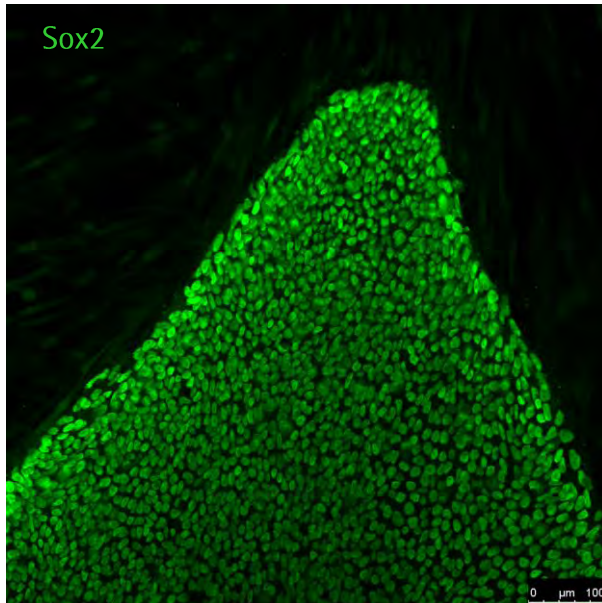
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células madre pluripotentes



Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes para **Nanog** y **TRA-1-81**



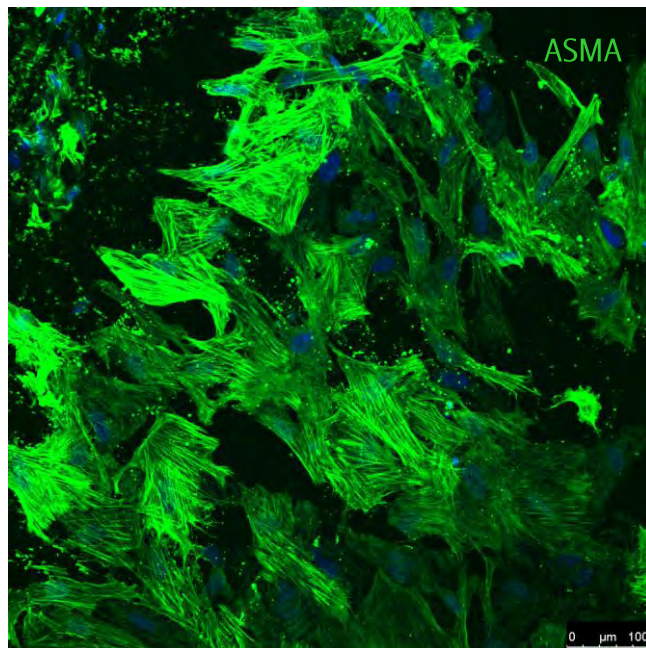
Inmuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes para **Oct-4** y **SSEA-3**



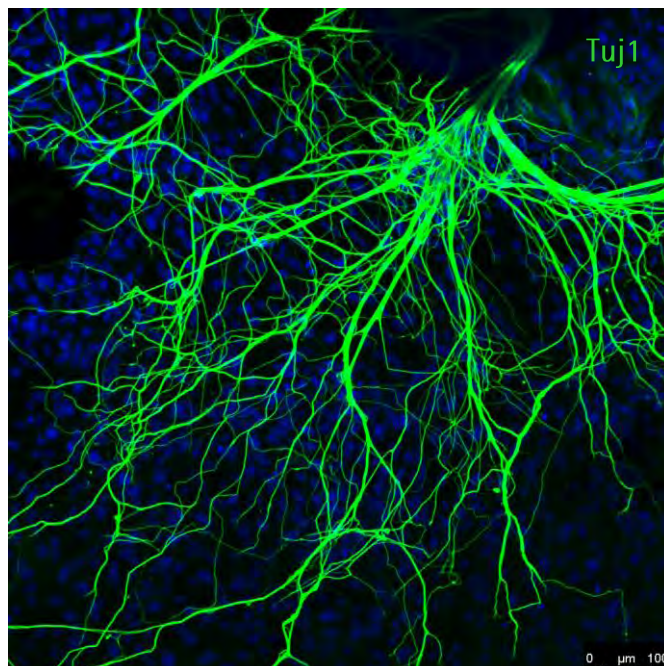
Immuno-reactividad de la línea de células madre pluripotentes para **Sox-2**, **SSEA-4** y **TRA1-60**

Anexo 2

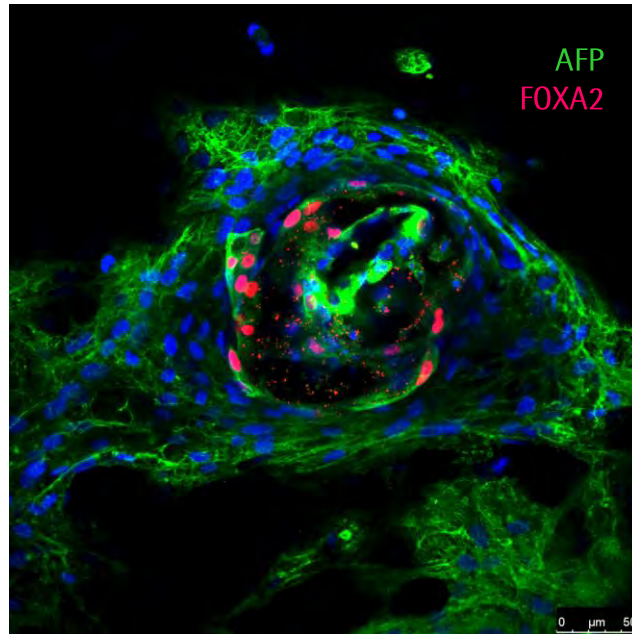
Diferenciación *in vitro*



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



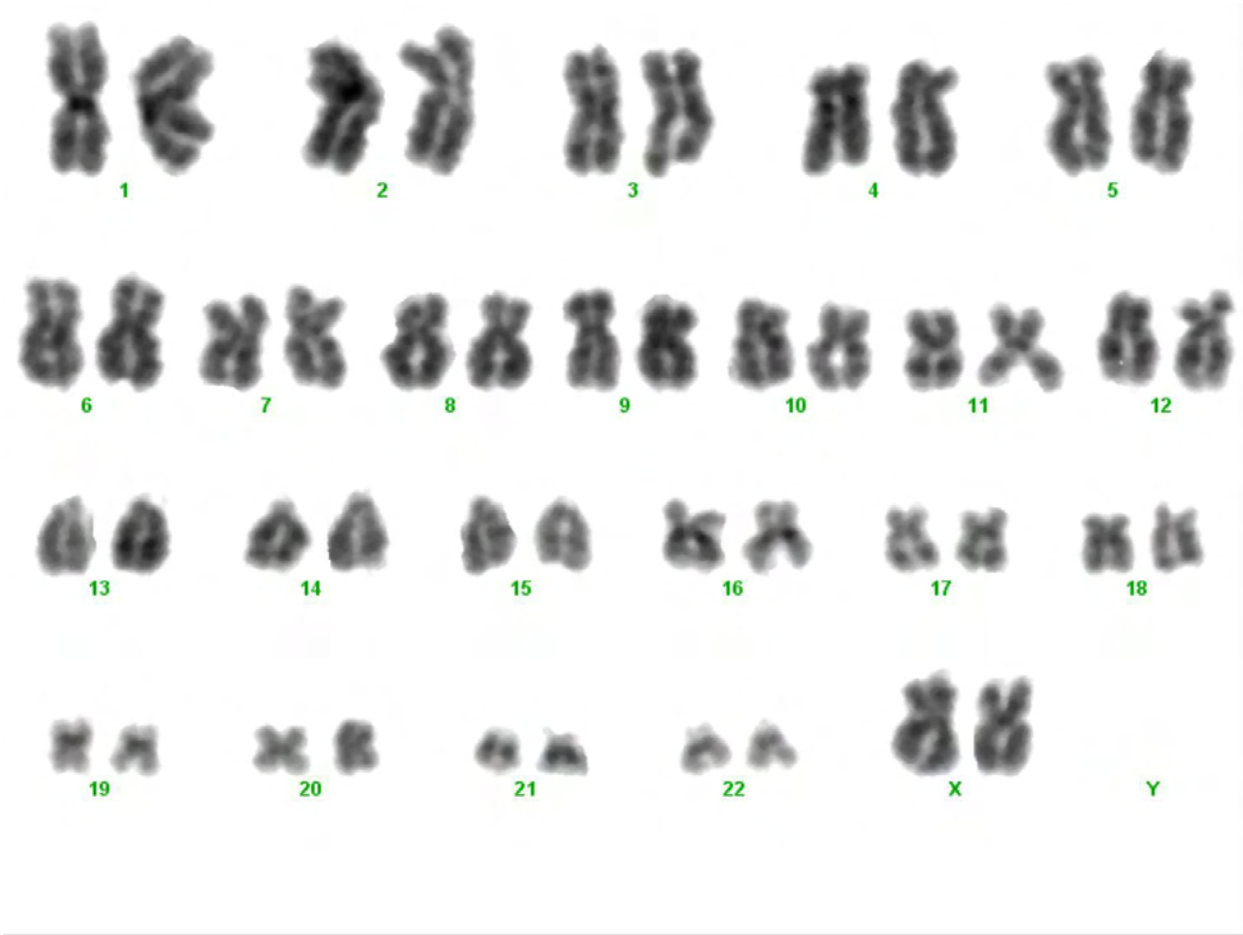
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1**



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

Anexo 3

Cariotipo



Anexo 4

Estudio microsatélites

Análisis de microsatélites en la línea de células madre pluripotentes [PD] FiPS006-4F-11 y en la línea de fibroblastos de la cual proceden.



qCell Identity Test

Web: <http://www.qgenomics.com>
 Email: 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: PD006 FiPS-4F-11
Identificador interno: qG15013240
Descripción: 1 tubo de 15mL con pellet celular.
 Nota: ID petición PD006 FiPS-4F-11, pero en el tubo indica PD006

Informe de resultados

Resultados

Calidad de la muestra: Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
PD006 FiPS-4F-11	6-8	29-33.2	13-13	12-14	8-8	13-14	12-12	XX	16-18	8-10

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 PAL125 006 p4 (qG15013233)

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 microsatélite: *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 PAL125 006 p4
Identificador interno: qG15013233
Descripción: 1 tubo 1.5mL con pellet celular.
Nota: ID petición Parkinson PAL125 006 p4, pero en el tubo indica Fibras PD006

Informe de resultados

Resultados

Calidad de la muestra: Correcta

Muestra	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
Parkinson PAL125 006 p4	6-8	29-33.2	13-13	12-14	8-8	13-14	12-12	XX	16-18	8-10

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 PD006 FIPS-4F-11 (qG15013240)

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).

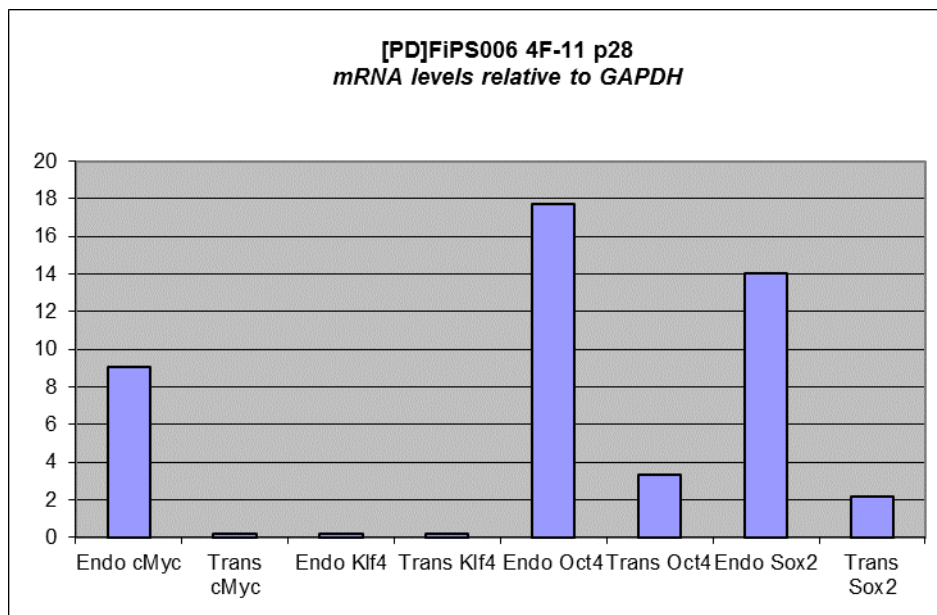
Anexo 5

Estudio integración y de silenciamiento



Oct4 Sox2 Klf4 cMyc

Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los 4 genes utilizados Oct-4, Sox-2, Klf4 y c-myc) para generar la línea [PD]FiPS006-4F-11



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 6

Genotipación de la línea

SEQUENCE RESULTS:

Sequence of PCR product on exon 7 of PINK1

WT PINK1 cDNA:

```
ATGGCGGTGCGACAGGCGCTGGGCCGCGGCCTGCAGCTGGGTGCGAGCGCTGCTGCTGCGCTTACAGGGCAAGCCCGG
CCGGGCCCTACGGCTTGGGGCGGGCCGGGCCCGGGCGGGGCTGTGTCCGCGGGGAGCGTCCAGGCTGGGCCGACAGGAC
CGGGCGCGGAGCCTCGCAGGGTCCGGGCTCGGGCTCCCTAACCGTCTCCGCTTCTTCCGCCAGTCGGTGGCCGGGCTG
GCGGCGCGGTGTCAGCGGCAGTTTCGTGGTGCGGGCCCTGGGGCTGCGCGGGCCCTTGCGGCCGGGCAGTCTTTCTGGC
CTTCCGGCTAGGGCTGGGCCCTCATCGAGGAAAAACAGGCGGAGAGCCGGCGGGCGGTCTCGGCCTGTCAGGAGATCC
AGGCAATTTTTTACCCAGAAAAGCAAGCCGGGGCCGACCCGTTGGACACGAGACGCTTGCAGGGCTTTTCGGCTGGAG
GAGTATCTGATAGGGCAGTCCATTGGTAAGGGCTGCAGTGTGTGTATGAAGCCACCATGCCTACATTGCCCA
GAACCTGGAGGTGACAAAGAGCACCGGGTTGCTTCCAGGGAGAGGCCAGGTACCAGTGCACCAGGAGAAGGGCAGG
AGCGAGCTCCGGGGGCCCCGCTTCCCTTGGCCATCAAGATGATGTGGAACATCTCGGCAGGTTCTCCAGCGAA
GCCATCTTGAACACAATGAGCCAGGAGCTGGTCCCAGCGAGCCGAGTGGCCTTGGCTGGGGAGTATGGAGCAGTCAC
TTACAGAAAATCCAAGAGAGGTCCAAGCAACTAGCCCCCTCACCCCAACATCATCCGGGTTCTCCGCGCCTTACCT
CTTCCGTGCCGCTGCTGCCAGGGGCCCTGGTGCAGTACCCTGATGTGTGCTGCCCTCACGCCTCCACCCTGAAGGCCTG
GGCCATGGCCGGACGCTGTTCCCTCGTTATGAAGAACTATCCCTGTACCCTGCGCCAGTACCTTTGTGTGAACACACC
CAGCCCCCGCCTCGCCGCCATGATGCTGCTGCAGCTGCTGGAAGGCGTGGACCATCTGGTTCAACAGGGCATCGCGC
ACAGAGACCTGAAATCCGACAACATCCTTGTGGAGCTGGACCCAGACGGCTGCCCTGGCTGGTGTATCGCAGATTTT
GGCTGCTGCCTGGCTGATGAGAGCATCGGCCTGCAGTTGCCCTTCCAGCAGCTGGTACGTGGATCGGGGCGGAAACGG
CTGTCTGATGGCCCCAGAGGTGTCCACGGCCCCGCTTCCGGCCCCAGGGCAGTGATTGACTACAGCAAGGCTGATGCCT
GGGCAGTGGGAGCCATCGCCTATGAAATCTTCGGGCTTGTCAATCCCTTCTACGGCAGGGCAAGGCCACCTTGAA
AGCCGCAGCTACCAAGAGGCTCAGCTACCTGCACTGCCCCGAGTCACTGCCTCCAGACGTGAGACAGTTGGTGAGGGC
ACTGCTCCAGCGAGAGGCCAGCAAGAGACCATCTGCCCGAGTAGCCGCAAATGTGCTTCATCTAAGCCTCTGGGGTG
AACATATCTAGCCCTGAAGAATCTGAAGTTAGACAAGATGGTTGGCTGGCTCCTCCAACAATCGGCCGCCACTTTG
TTGGCCAACAGGCTCACAGAGAAGTGTGTGTGGAACAACAAAATGAAGATGCTCTTTCTGGCTAACCTGGAGTGTGA
AACGCTCTGCCAGGCAGCCCTCCTCCTCTGCTCATGGAGGGCAGCCCTGTGA
```

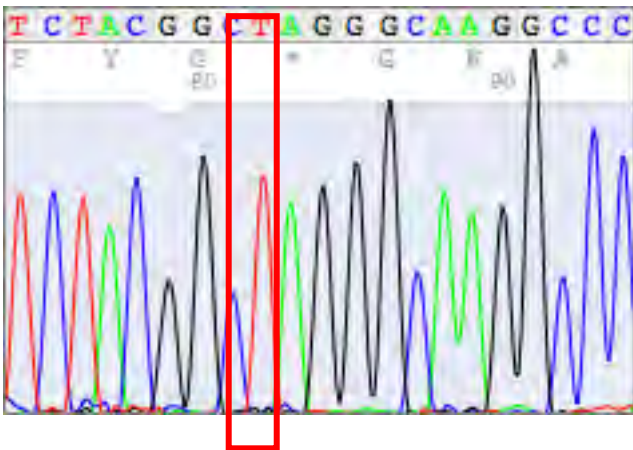
Mutated PINK1 cDNA:

```
ATGGCGGTGCGACAGGCGCTGGGCCGCGGCCTGCAGCTGGGTGCGAGCGCTGCTGCTGCGCTTACAGGGCAAGCCCGG
CCGGGCCCTACGGCTTGGGGCGGGCCGGGCCCGGGCGGGGCTGTGTCCGCGGGGAGCGTCCAGGCTGGGCCGACAGGAC
CGGGCGCGGAGCCTCGCAGGGTCCGGGCTCGGGCTCCCTAACCGTCTCCGCTTCTTCCGCCAGTCGGTGGCCGGGCTG
GCGGCGCGGTGTCAGCGGCAGTTTCGTGGTGCGGGCCCTGGGGCTGCGCGGGCCCTTGCGGCCGGGCAGTCTTTCTGGC
CTTCCGGCTAGGGCTGGGCCCTCATCGAGGAAAAACAGGCGGAGAGCCGGCGGGCGGTCTCGGCCTGTCAGGAGATCC
AGGCAATTTTTTACCCAGAAAAGCAAGCCGGGGCCGACCCGTTGGACACGAGACGCTTGCAGGGCTTTTCGGCTGGAG
GAGTATCTGATAGGGCAGTCCATTGGTAAGGGCTGCAGTGTGTGTATGAAGCCACCATGCCTACATTGCCCA
GAACCTGGAGGTGACAAAGAGCACCGGGTTGCTTCCAGGGAGAGGCCAGGTACCAGTGCACCAGGAGAAGGGCAGG
AGCGAGCTCCGGGGGCCCCGCTTCCCTTGGCCATCAAGATGATGTGGAACATCTCGGCAGGTTCTCCAGCGAA
GCCATCTTGAACACAATGAGCCAGGAGCTGGTCCCAGCGAGCCGAGTGGCCTTGGCTGGGGAGTATGGAGCAGTCAC
TTACAGAAAATCCAAGAGAGGTCCAAGCAACTAGCCCCCTCACCCCAACATCATCCGGGTTCTCCGCGCCTTACCT
CTTCCGTGCCGCTGCTGCCAGGGGCCCTGGTGCAGTACCCTGATGTGTGCTGCCCTCACGCCTCCACCCTGAAGGCCTG
GGCCATGGCCGGACGCTGTTCCCTCGTTATGAAGAACTATCCCTGTACCCTGCGCCAGTACCTTTGTGTGAACACACC
CAGCCCCCGCCTCGCCGCCATGATGCTGCTGCAGCTGCTGGAAGGCGTGGACCATCTGGTTCAACAGGGCATCGCGC
ACAGAGACCTGAAATCCGACAACATCCTTGTGGAGCTGGACCCAGACGGCTGCCCTGGCTGGTGTATCGCAGATTTT
GGCTGCTGCCTGGCTGATGAGAGCATCGGCCTGCAGTTGCCCTTCCAGCAGCTGGTACGTGGATCGGGGCGGAAACGG
CTGTCTGATGGCCCCAGAGGTGTCCACGGCCCCGCTTCCGGCCCCAGGGCAGTGATTGACTACAGCAAGGCTGATGCCT
GGGCAGTGGGAGCCATCGCCTATGAAATCTTCGGGCTTGTCAATCCCTTCTACGGCTAGGGCAAGGCCACCTTGAA
AGCCGCAGCTACCAAGAGGCTCAGCTACCTGCACTGCCCCGAGTCACTGCCTCCAGACGTGAGACAGTTGGTGAGGGC
ACTGCTCCAGCGAGAGGCCAGCAAGAGACCATCTGCCCGAGTAGCCGCAAATGTGCTTCATCTAAGCCTCTGGGGTG
AACATATCTAGCCCTGAAGAATCTGAAGTTAGACAAGATGGTTGGCTGGCTCCTCCAACAATCGGCCGCCACTTTG
TTGGCCAACAGGCTCACAGAGAAGTGTGTGTGGAACAACAAAATGAAGATGCTCTTTCTGGCTAACCTGGAGTGTGA
AACGCTCTGCCAGGCAGCCCTCCTCCTCTGCTCATGGAGGGCAGCCCTGTGA
```

Sample: PAL 125 006

Sequencing result:

GGCGATGATAAGCAGGCTGATGCCTGGGCAGTGGGAGCCATCGCCTATGAAATCTT
CGGGCTTGTC AATCCCTTCTACGGCTAGGGCAAGGCCACCTTGAAAGCCGCAGCT
ACCAAGAGGCTCAGCTACCTGCACTGCCCGAGTCAGTGCCTCCAGACGTGAGACAG
TTGGTGAGGGCACTGCTCCAGCGAGAGGCCAGCAAGA



Result:

PAL 125 006 presents a homozygotic mutation on PINK1 exon 7.

Anexo 7

Test de mycoplasma

MYCOPLASMA TEST

1

2 3



1. [PD] FiPS006-4F-11

2. CT -

3. CT +