

7. ANEXO 1. MEDIOS DE CULTIVO

- **K.DMEM:** Knockout DMEM (Life technology, Paisley, Escocia)
 - 10% Knockout Serum Replacement (life technology, Paisley, Escocia)
 - Suero Fetal Bovino (Biowest, Nuaille, Francia)
 - Nucleosidos 100X (Millipore, Darmstadt, Alemania)
 - Penicilina/Estreptomicina (life technology, Bleiswijk, Países Bajos)
 - Aminoácidos no esenciales (Millipore, Darmstadt, Alemania)
 - L-glutamina (Millipore, Darmstadt, Alemania)
 - Factor inhibidor de leucemia (Millipore, Darmstadt, Alemania)
 - 0,2% 2-mercaptoetanol (Sigma-Aldrich, Madrid, España)

} 1% v/v
- **E.DMEM:** DMEM with 4,5 g/L glucose, w/o L-Glutamin (Lonza, Madrid, España)
 - 10% Knockout Serum Replacement
 - 1% Suero Fetal bovino
 - Nucleosidos 100X
 - Penicilina/Estreptomicina
 - Aminoácidos no esenciales
 - L-glutamina
 - 0,2 % v/v Beta-mercaptoetanol

} 1% v/v
- **Medio libre de suero (SFD):** DMEM/F12 (1:1) w/o L-glutamina (Fisher, Madrid, España)
 - Suplemento N2 a 1X (Invitrogen, Paisley, Escocia)
 - Albúmina de suero bovino a 10 ug/mL (Sigma-Aldrich, Madrid, España)
 - Hidrocortisona 20 nM (Sigma-Aldrich, Madrid, España)
 - Penicilina/Estreptomicina al 1% v/v
 - L-glutamina al 1% v/v
 - Embryomax Nucleosidos 100X al 1% v/v
- **Medio de diferenciación (DF)**
 - Medio control: DMEM/F12 (1:1) w/o L-glutamina
 - Glucosa al 30% w/v (Sigma-Aldrich, Madrid, España)
 - Bicarbonato Sódico (NaHCO₃) al 7,5% w/v (Sigma-Aldrich, Madrid, España)
 - HEPES 1M (Sigma-Aldrich, Madrid, España)
 - L-Glutamina 100X
 - Hormone Mix 10X
 - Penicilina/Estreptomicina al 2% v/v
 - 0,2% v/v Heparina (*Heparin sodium salt from porcine intestinal mucosa*, Sigma-Aldrich, Madrid, España)
 - Suero Fetal Bovino al 1% v/v
 - FGF 10 ng/mL (Eurobio, Courtaboeuf, Francia)