



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR RRMS **PBiPS11-Sv4F-7** EN EL  
BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

## ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

Anexo 4: Resultados microsatélites

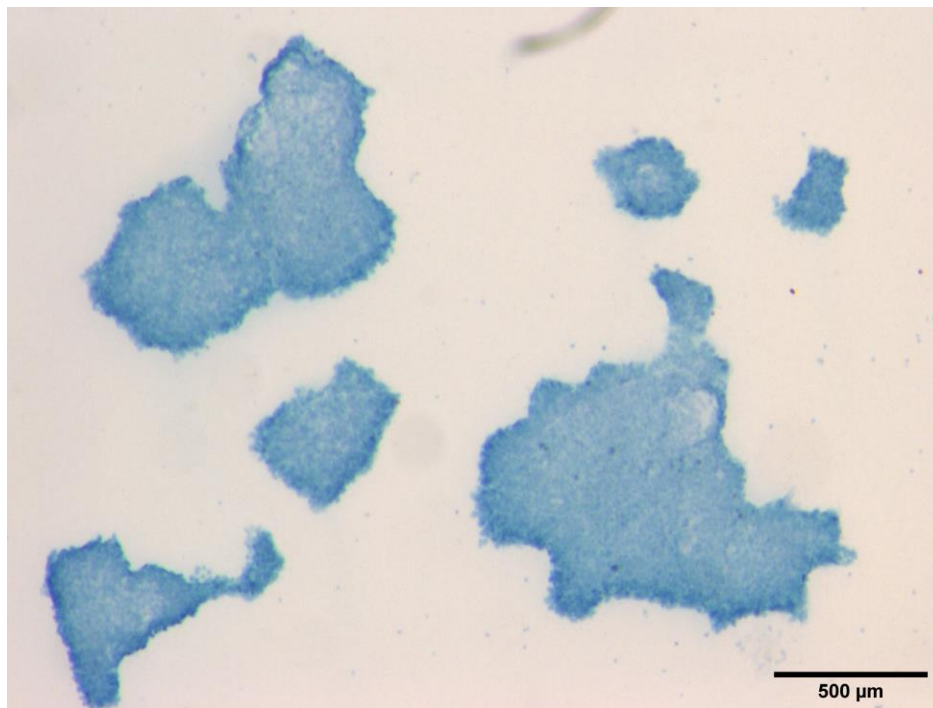
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

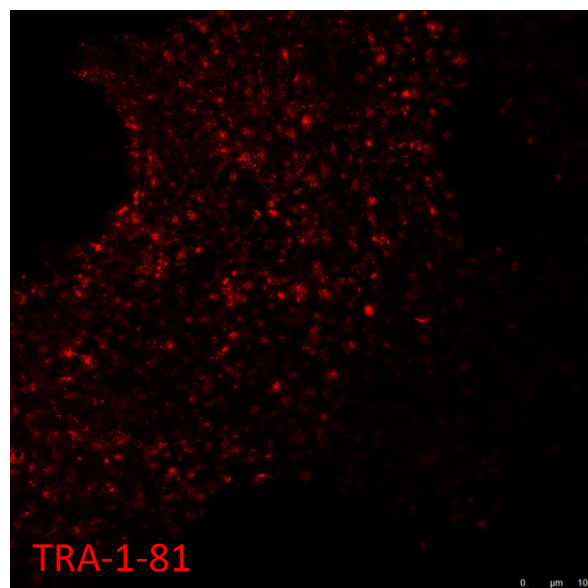
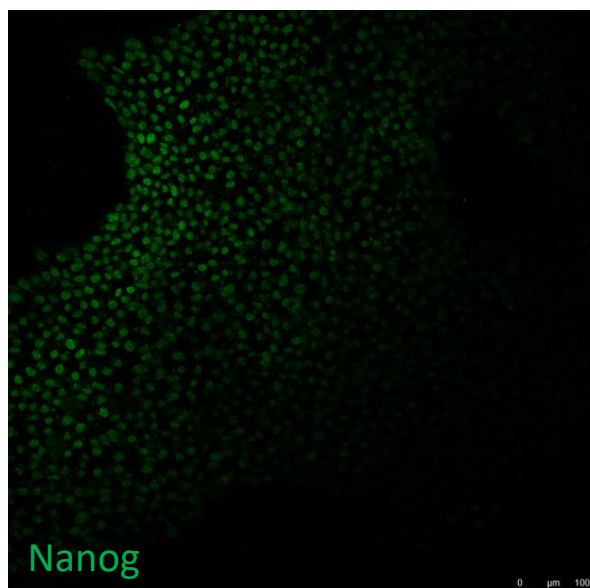


## **Anexo 1**

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

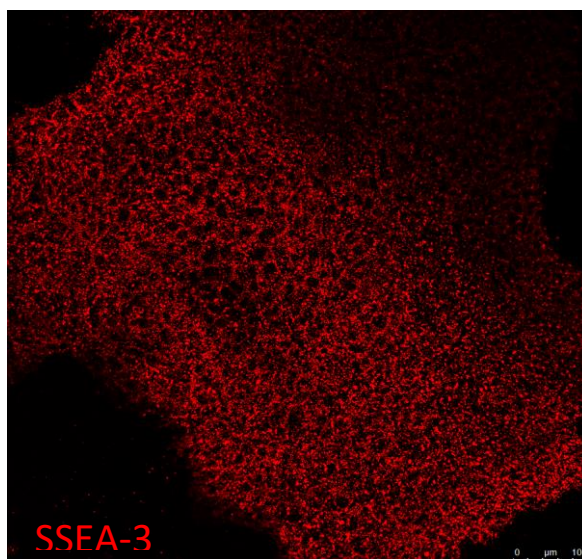
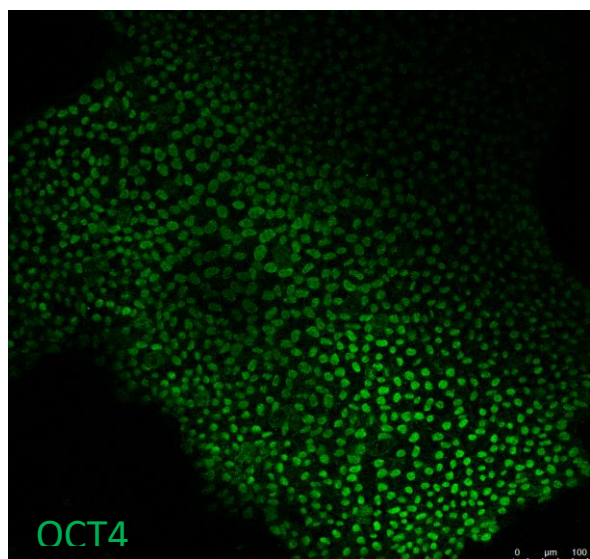


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



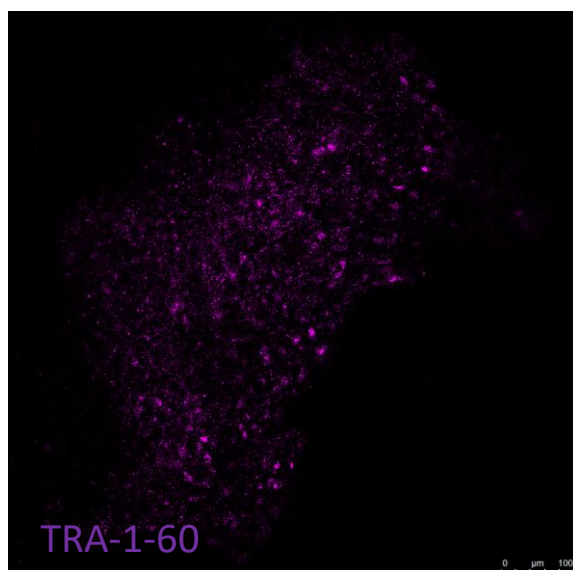
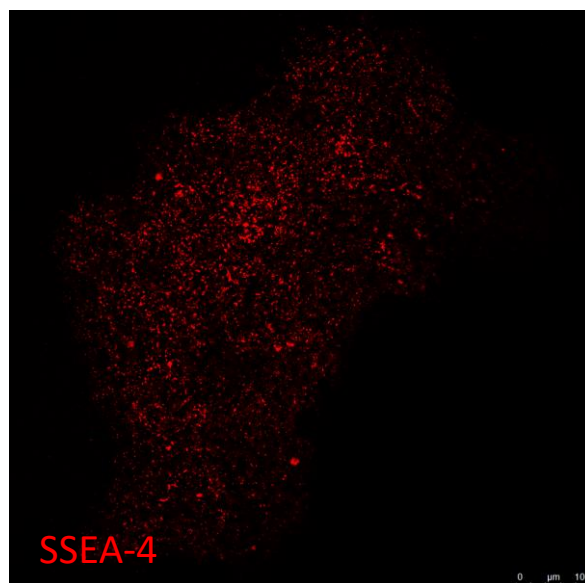
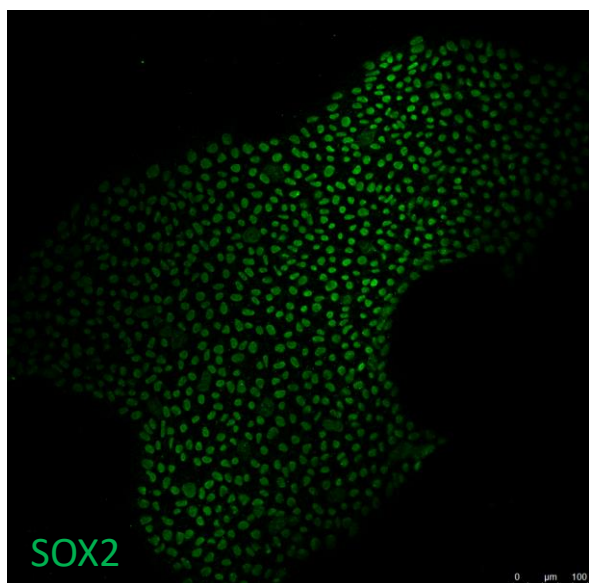
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**

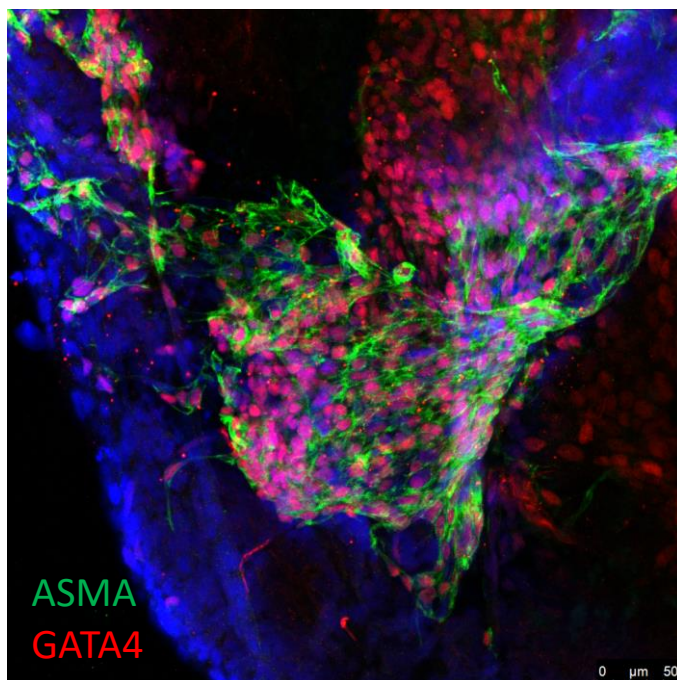


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia  
**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

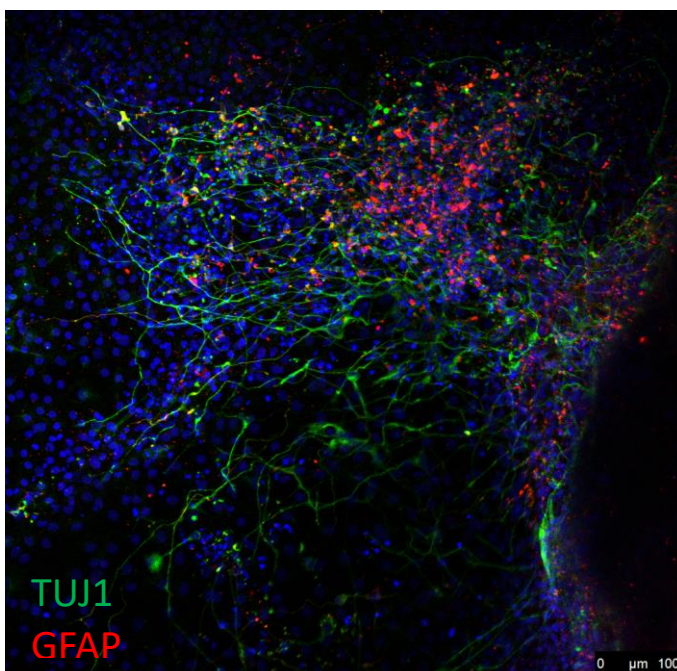


## **Anexo 2**

### **Diferenciación *in vitro***

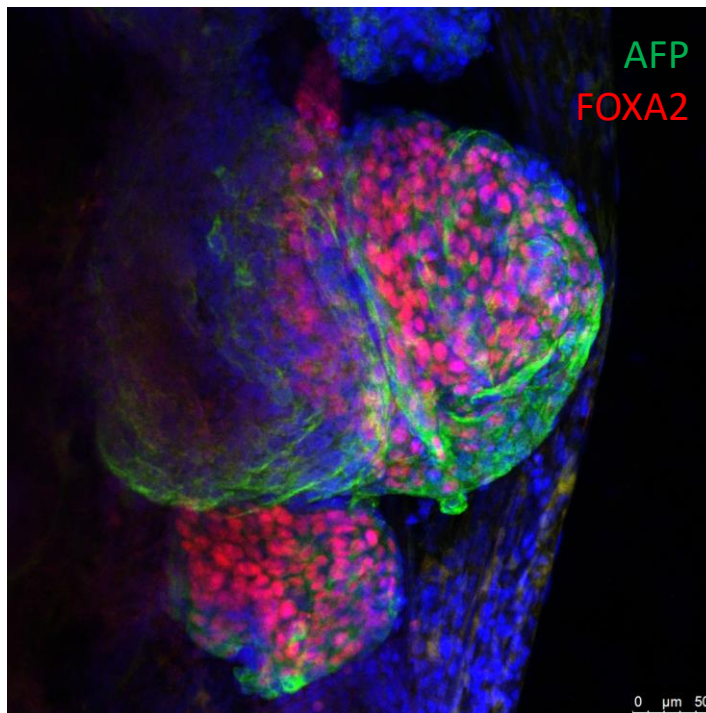


Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y GATA4**



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





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



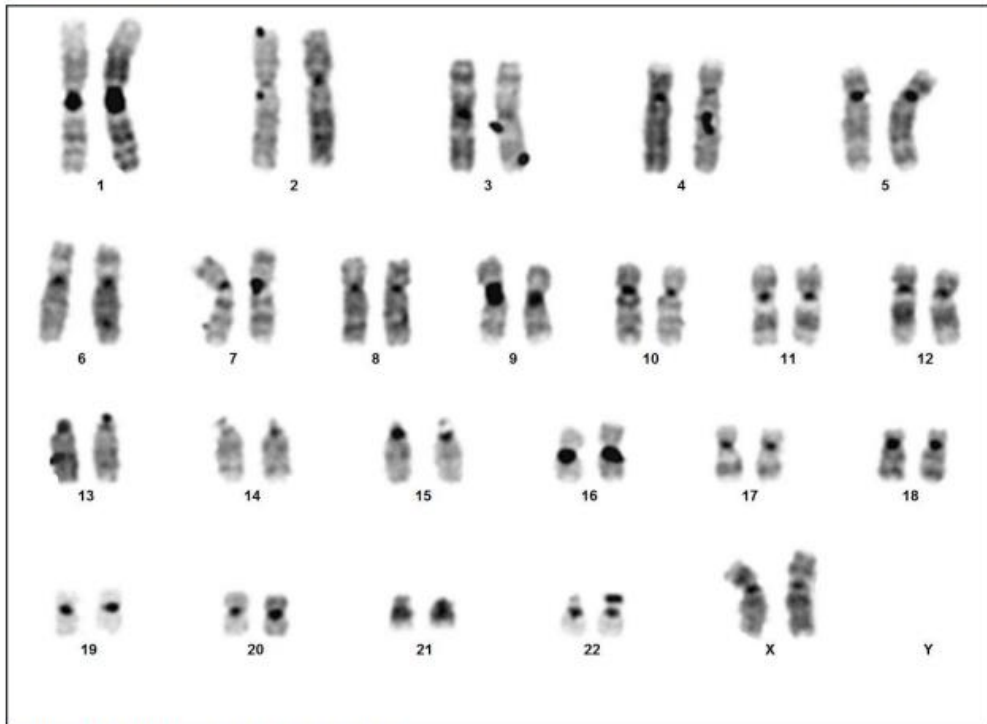
## **Anexo 3**

### **Cariotipo**

### CYTOGENETICS STUDY

Case name: 23110955  
Name: RRMS PBiPS11-Sv4F-7 p13  
NHC: CT0542

Department: IDIBELL  
Date: 11/17/2022  
Sample: CM



Case: 23110955 Slide: 2 Cell: 2

Result: 46,XX



## **Anexo 4**

### **Resultado microsátélites**

## 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
RRMS PBIPS11_Sv4F_7 p16	9.3	30; 31	11; 13	9; 12	10; 12	9; 12	11; 12	X	17; 18	10; 11

## 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
SAP12168672, 300ul peripheral blood, 12.07.22	9.3	30; 31	11; 13	9; 12	10; 12	9; 12	11; 12	X	17; 18	10; 11

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en las PBMC de las que procede.



## **Anexo 5**

### **Ausencia de los transgenes de reprogramación**

**RT-PCR SENDAI 2.0**  
**18/10/2022**

1. PMM2 FB20484 Sv-Inf, 0,5M cells, 16.02.2021
2. RRMS PBiPS11-Sv4F-2 p11
3. RRMS PBiPS11-Sv4F-5 p11
4. RRMS PBiPS11-Sv4F-7 p10
5. RRMS PBiPS11-Sv4F-10 p10
6. NF STiPS245-Sv4F- 6 p23
7. Sample NO RT
8. NEGATIVE CONTROL
9. H2O

Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



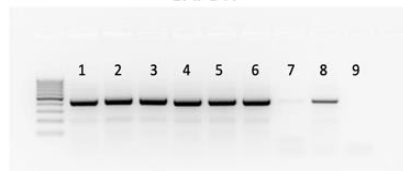
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



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

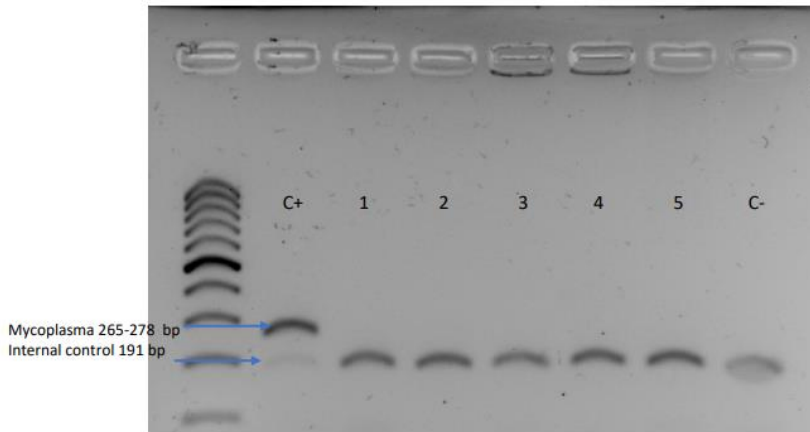


## **Anexo 6**

### **Resultado test de micoplasma**



**Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 26/10/2022**



1. PPMS\_PBIPS9\_Sv4F\_12 p12
2. RRMS\_PBIPS11\_Sv4F\_7 p11
3. RRMS\_PBIPS11\_Sv4F\_10 p11
4. BJ\_IPSC\_Sv4F\_9 p9
5. Fb-F5

**P-CMR[C]**