



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **PPMS PBiPS7-Sv4F-5** 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

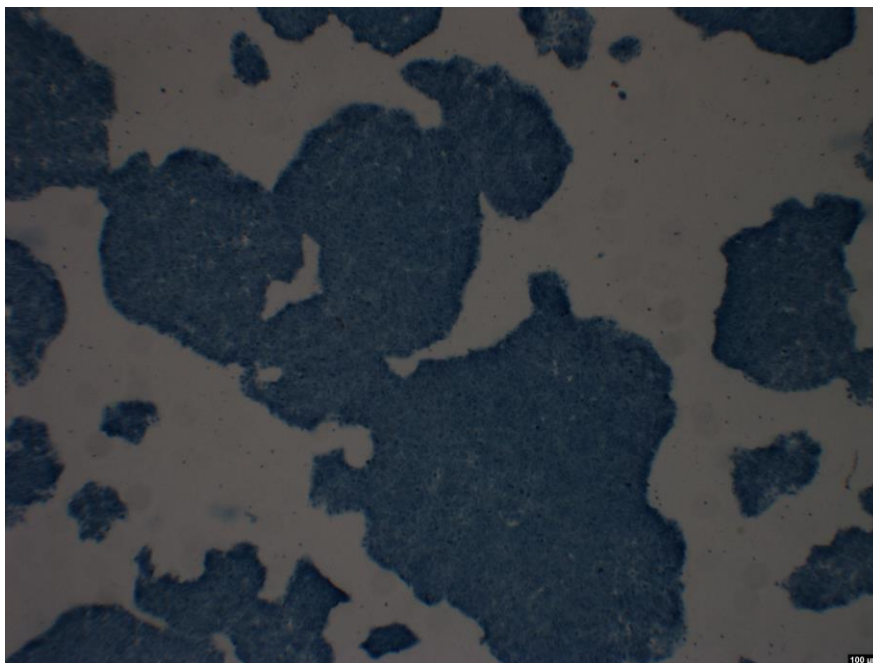
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

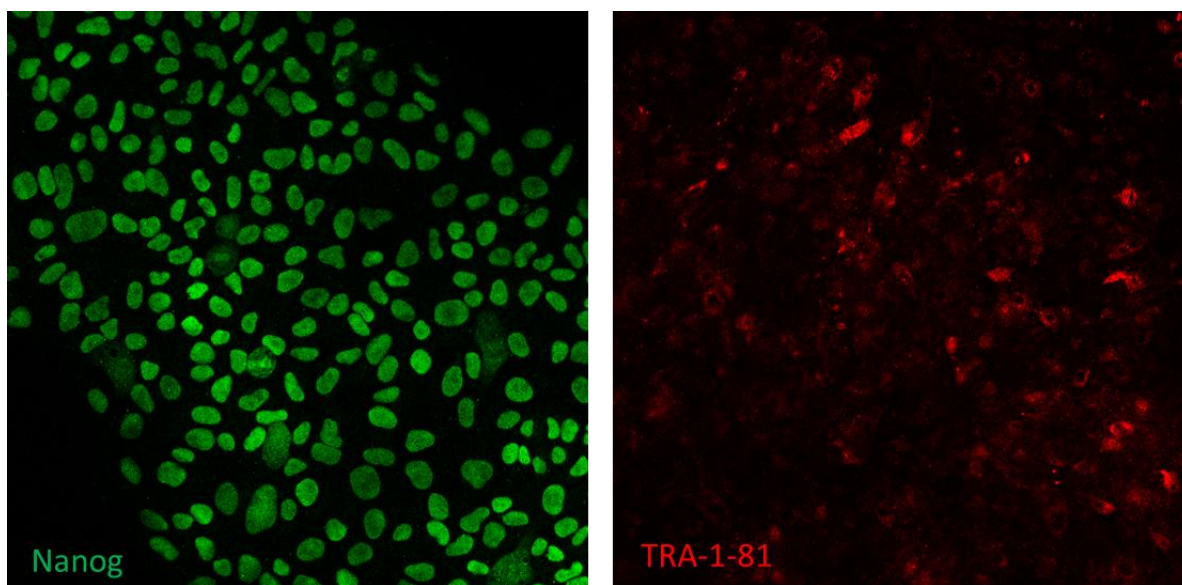


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

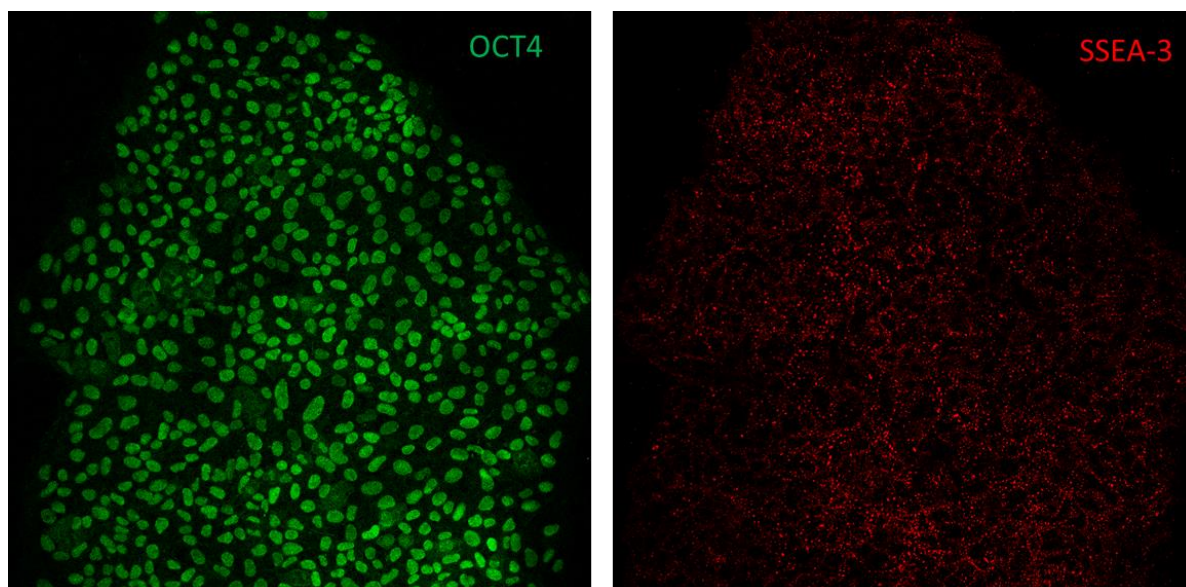


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



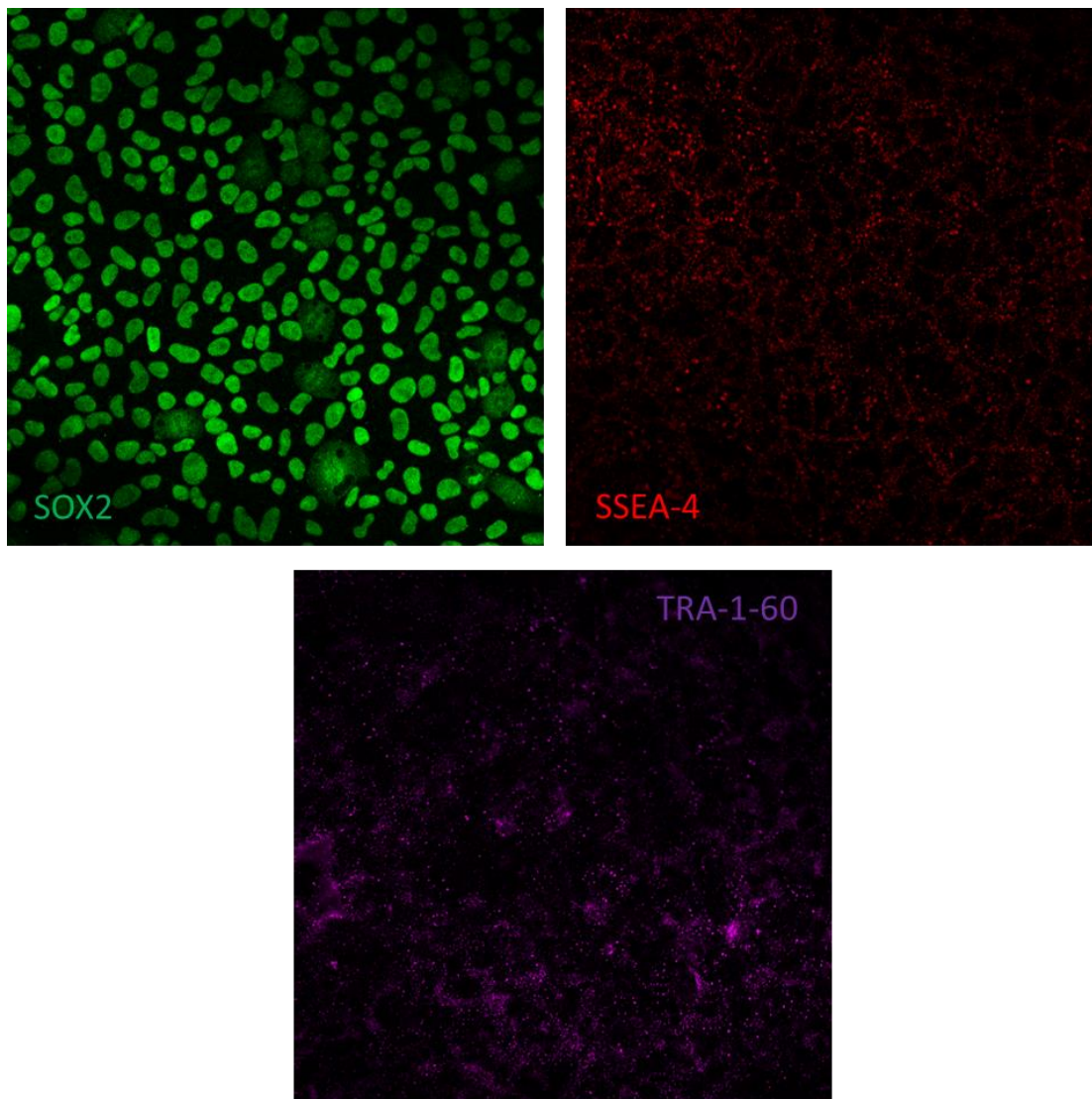
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3

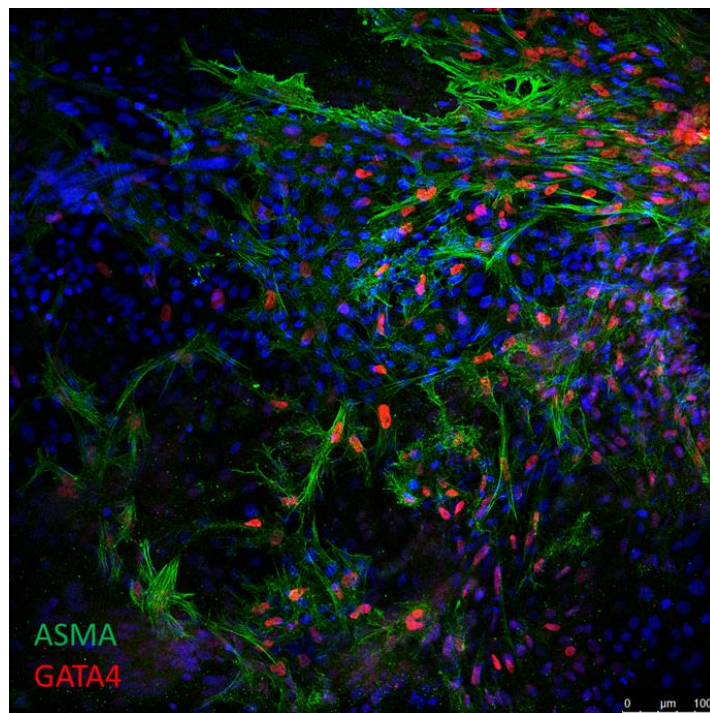


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

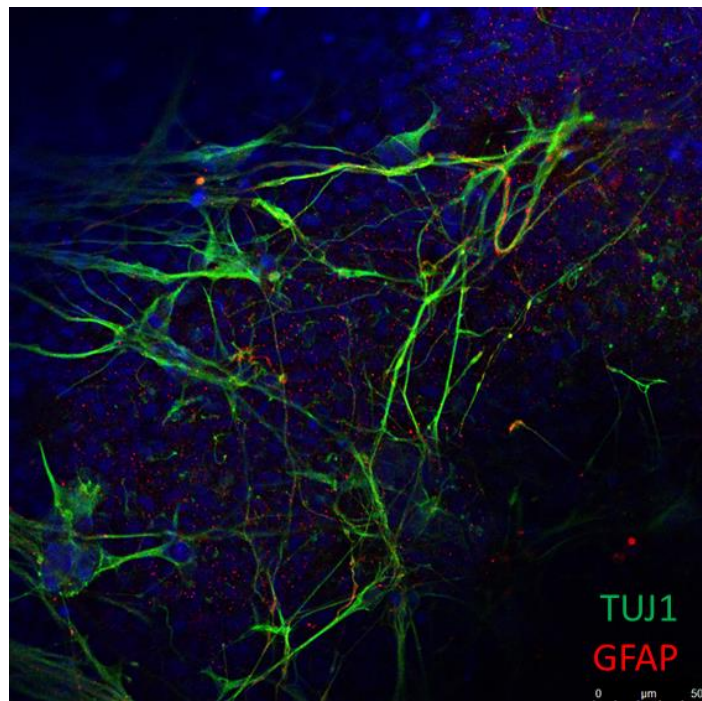


Anexo 2

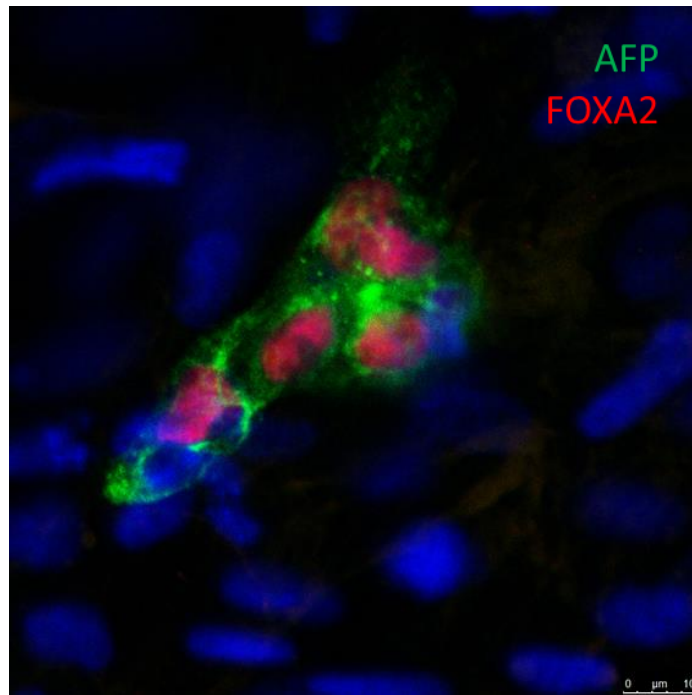
Diferenciación *in vitro*



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: 22550869

Department: IDIBELL

Name: PPMS PBiPS7-Sv4F-5 p12

Sample: CM

NHC: CT0501

Date: 9/20/2022



Case: 22550869 Slide: 2 Cell: 3

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

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
PPMS PBiPS7-Sv4F-5 p11	6; 9.3	30; 31	12; 13	11; 13	11; 12	13	10	X; Y	15; 19	9; 10

Barcelona, a 19 de septiembre de 2022

Laboratorio Biología Molecular

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
WB SAP11417190, 10.03.22	6; 9.3	30; 31	12; 13	11; 13	11; 12	13	10	X; Y	15; 19	9; 10

Barcelona, a 07 de abril de 2022

Laboratorio Biología Molecular

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



Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

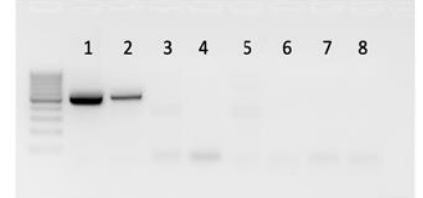
RT-PCR SENDAI 2.0
28/06/2022

1. Fb PMM2 Sv-Infected, 05.03.2021
2. PPMS PBiPS7 Sv4F-1, P7, mg, 14.06.22
3. PPMS PBiPS7 Sv4F-3, P7, mg, 20.06.22
4. PPMS PBiPS7 Sv4F-5, P7, mg, 16.06.22
5. PPMS PBiPS7 Sv4F-16, P7, mg, 21.06.22
6. Sample NO RT
7. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL)
8. H2O

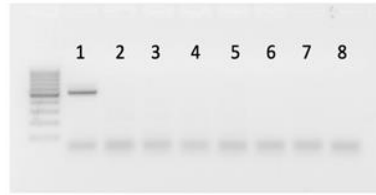
Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



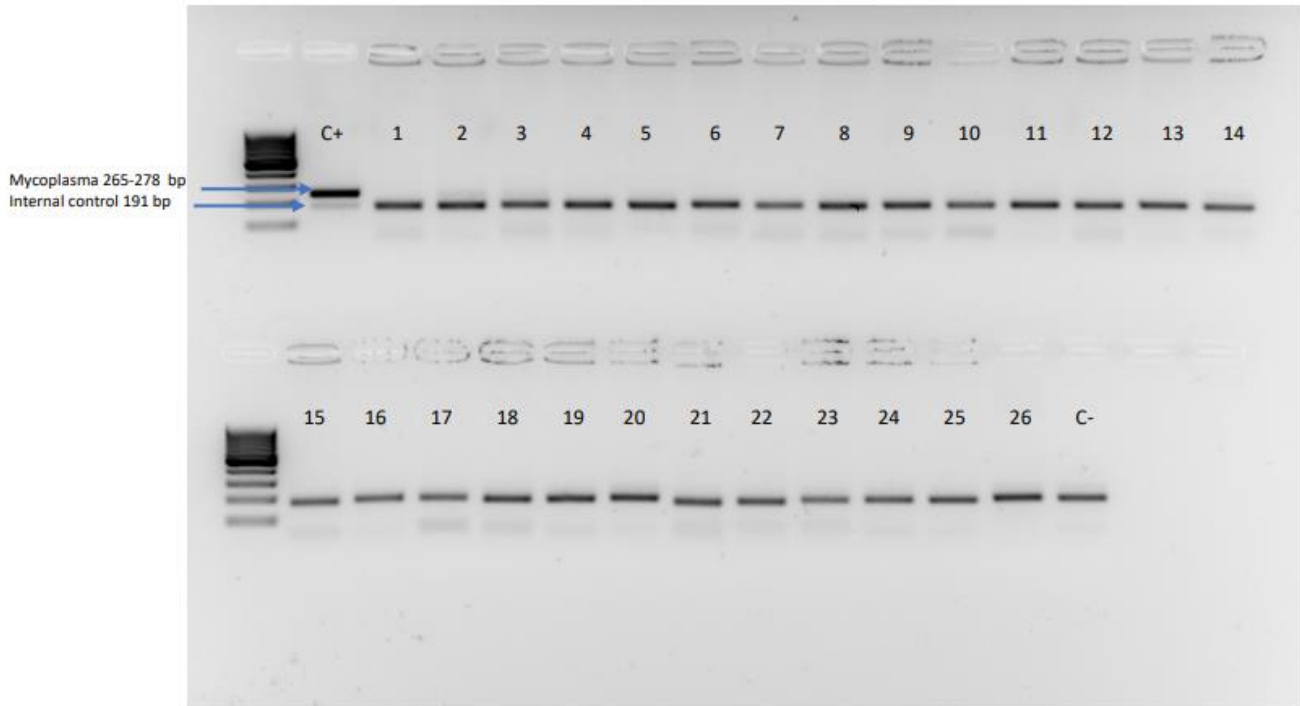
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 18/08/2022



- 21. MS10-6 p6
- 22. MS8-4 p13
- 23. MS7-5 p13
- 24. MS10-4 p14