



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **PPMS PBiPS10-Sv4F-1** 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

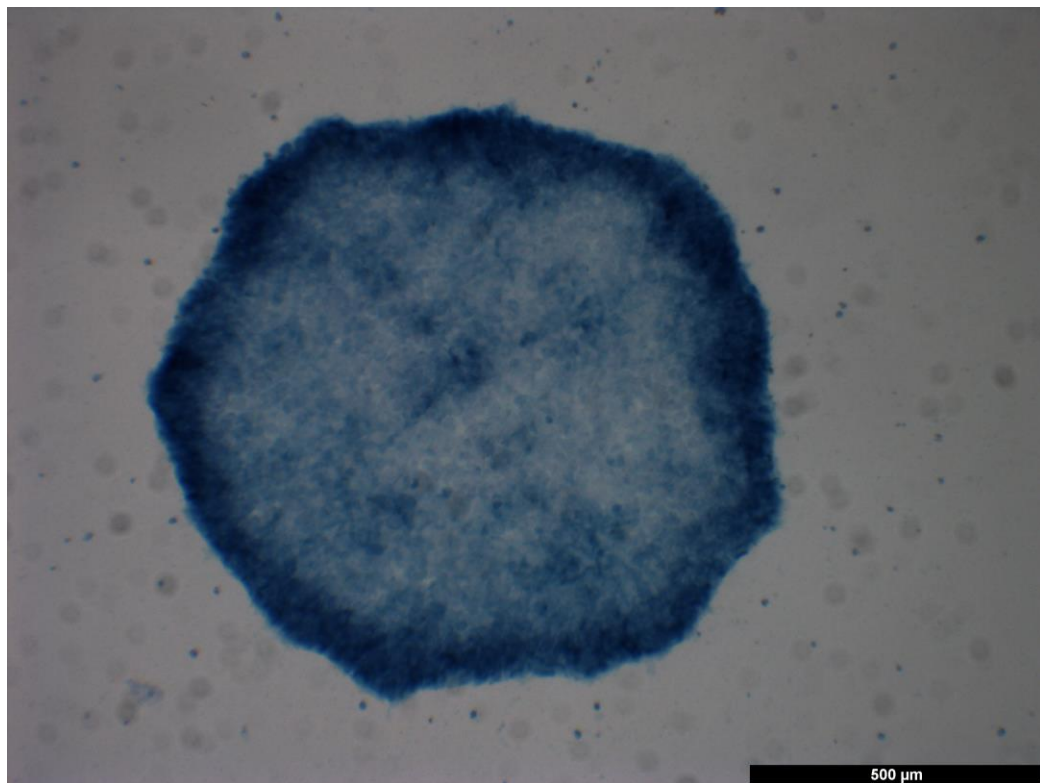
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

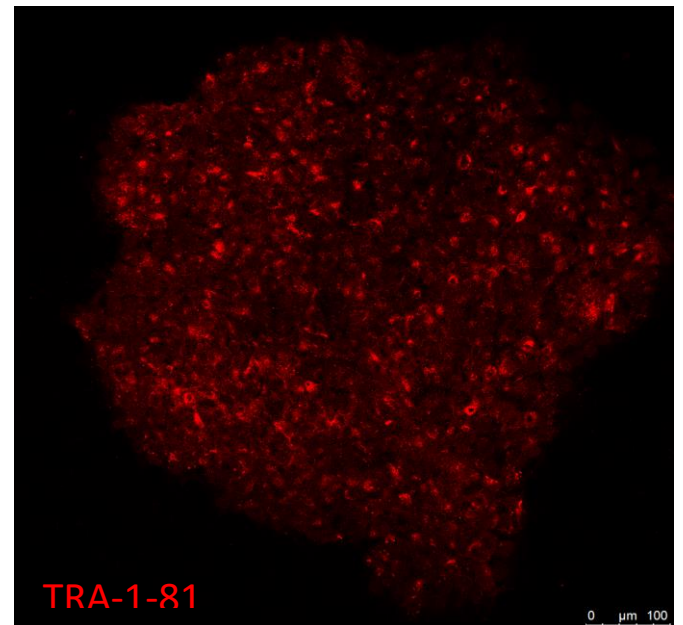
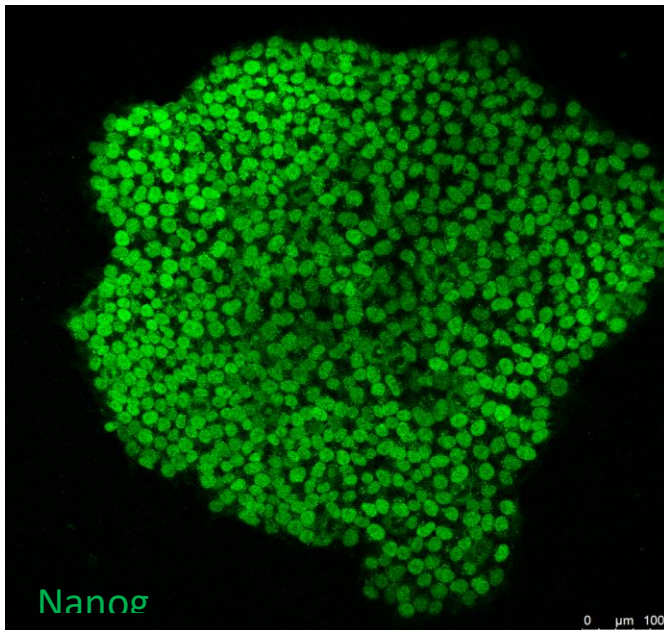


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

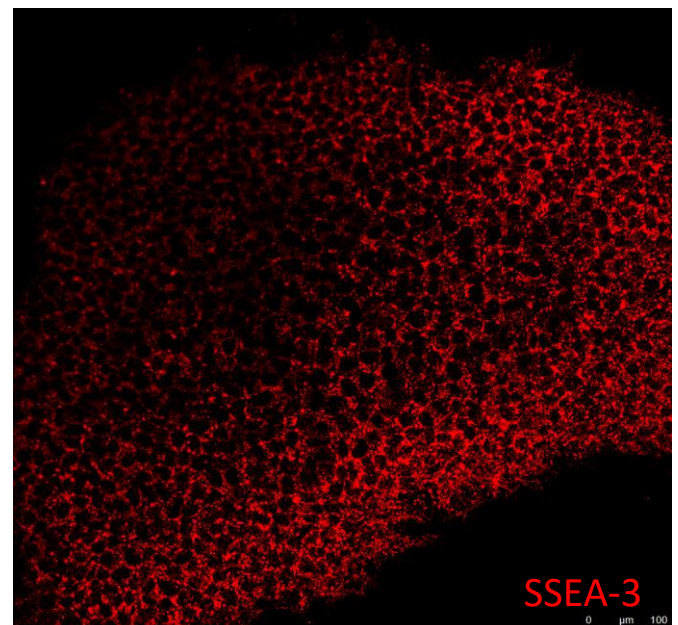
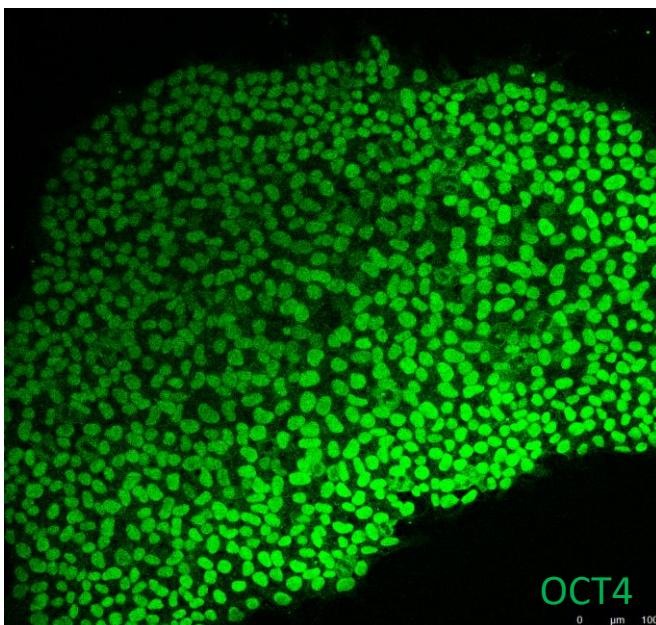


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



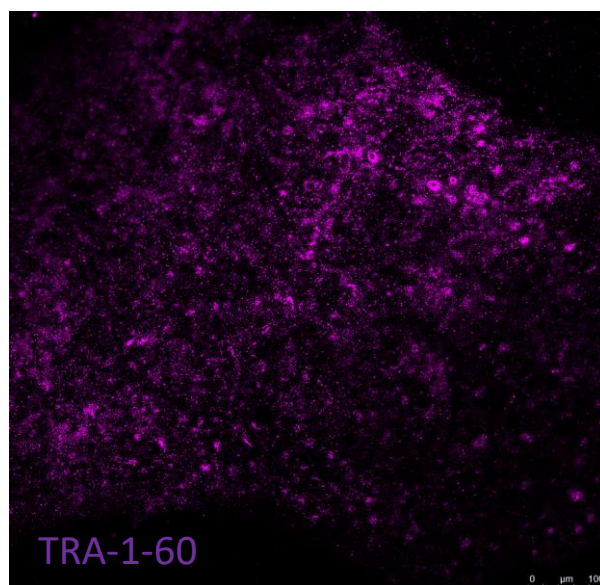
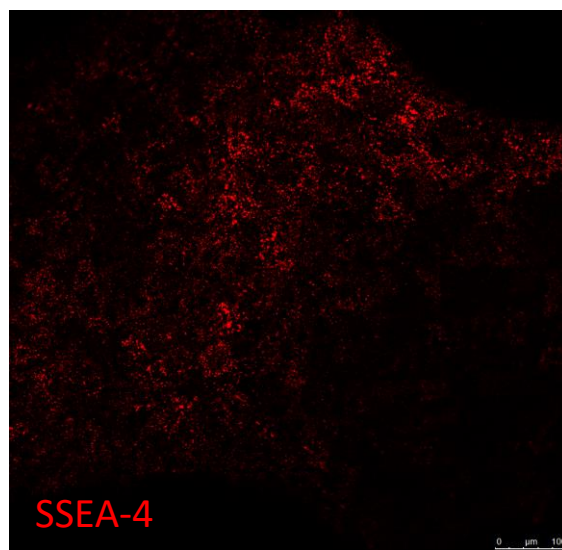
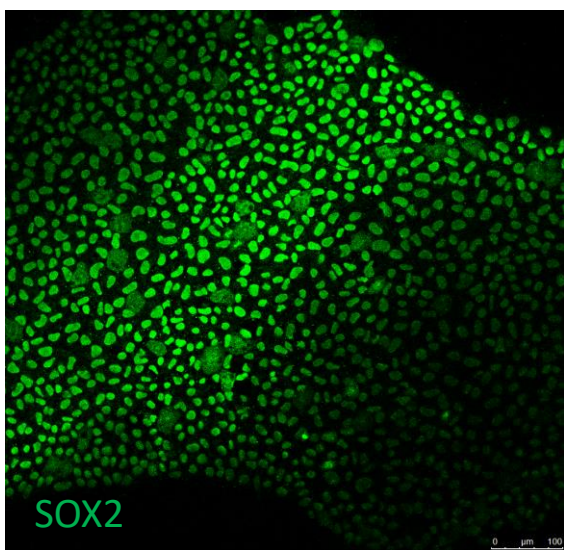
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



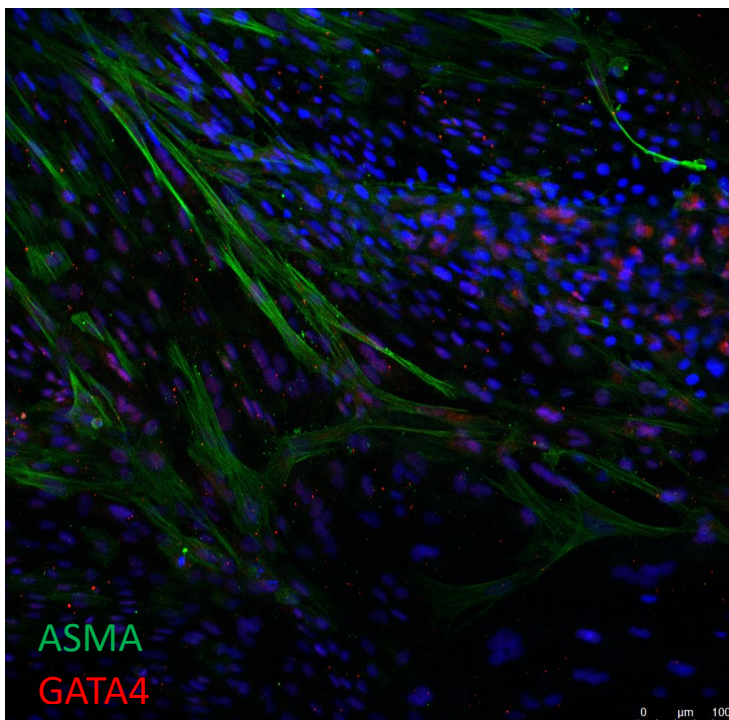
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

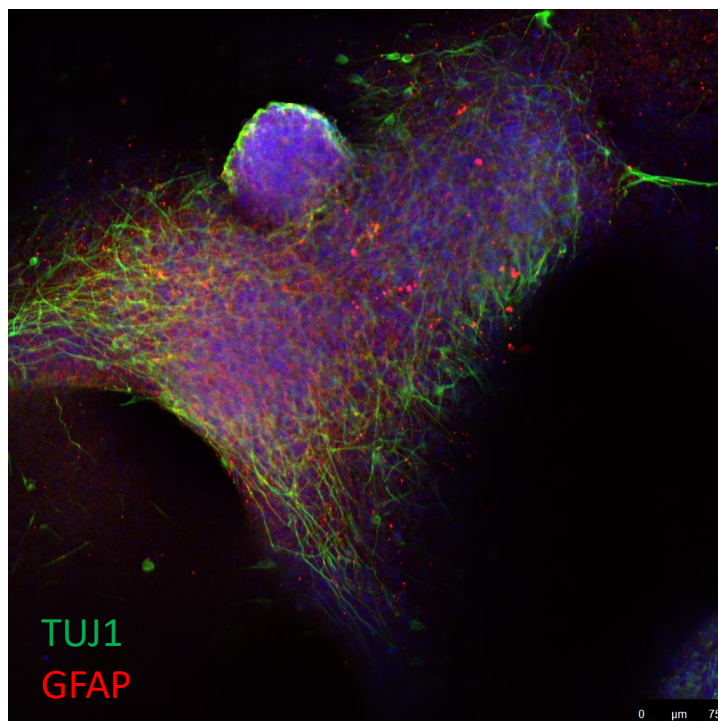


Anexo 2

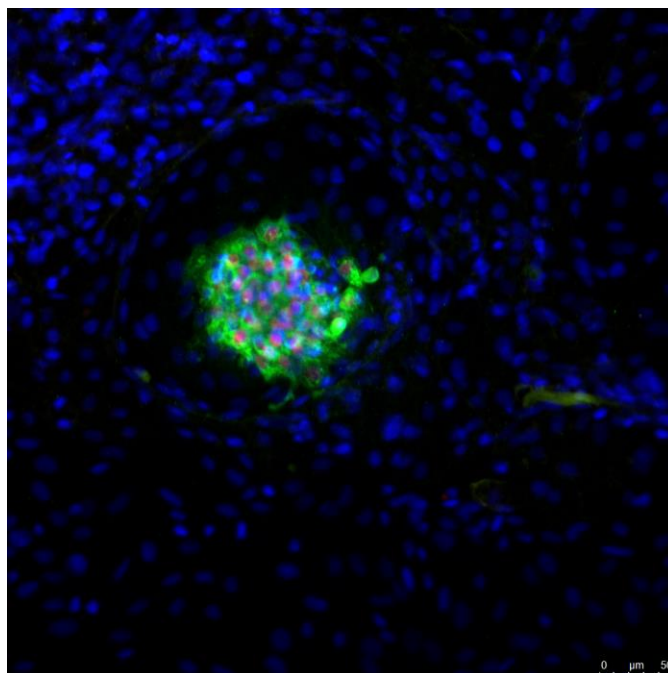
Diferenciación *in vitro*



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**



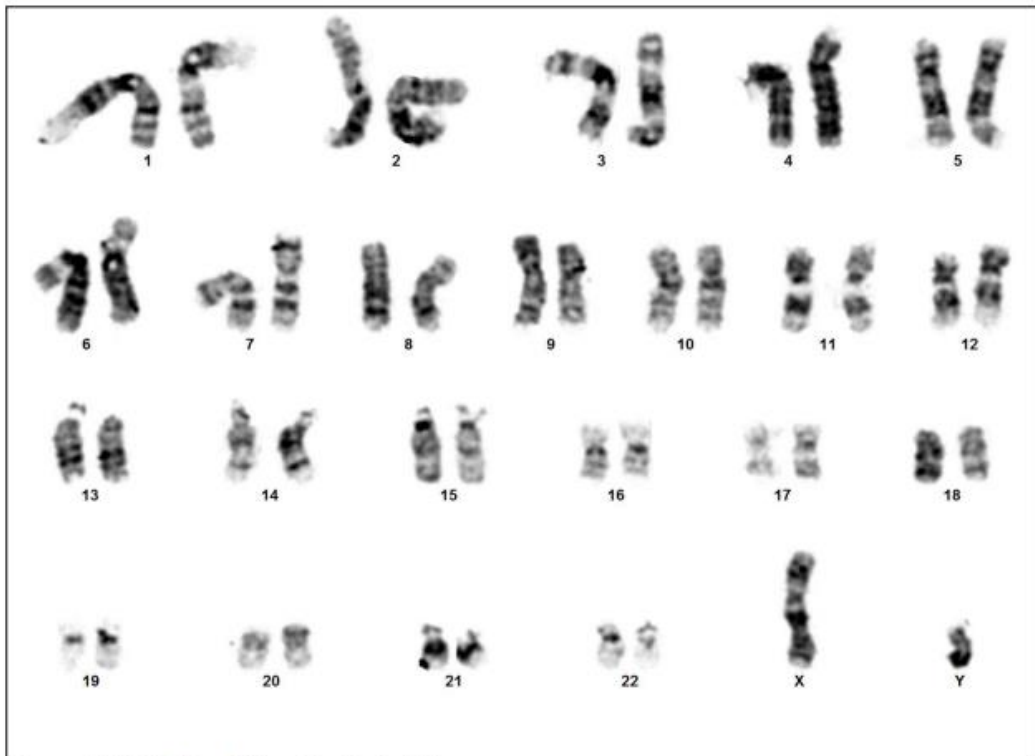
Anexo 3

Cariotipo

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 23070916
Name: PPMS PBiPS10-Sv4F-1 p15
NHC: CT0540

Department: IDIBELL
Sample: CM
Date: 11/14/2022



Case: 23070916 Slide: 2 Cell: 4F

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 |
| "Peripheral blood SAP 11728459, MS10, 06.04.22" | 9.3 | 29; 33.2 | 11; 12 | 12 | 8; 12 | 11 | 11 | X; Y | 19; 22 | 9; 10 |

Barcelona, a 19 de mayo 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 |
| PPMS PBiPS10-Sv4F-1 p16 | 9.3 | 29; 33.2 | 11; 12 | 12 | 8; 12 | 11 | 11 | X; Y | 19; 22 | 9; 10 |

Barcelona, a 28 de diciembre de 2022

Laboratorio Biología Molecular

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

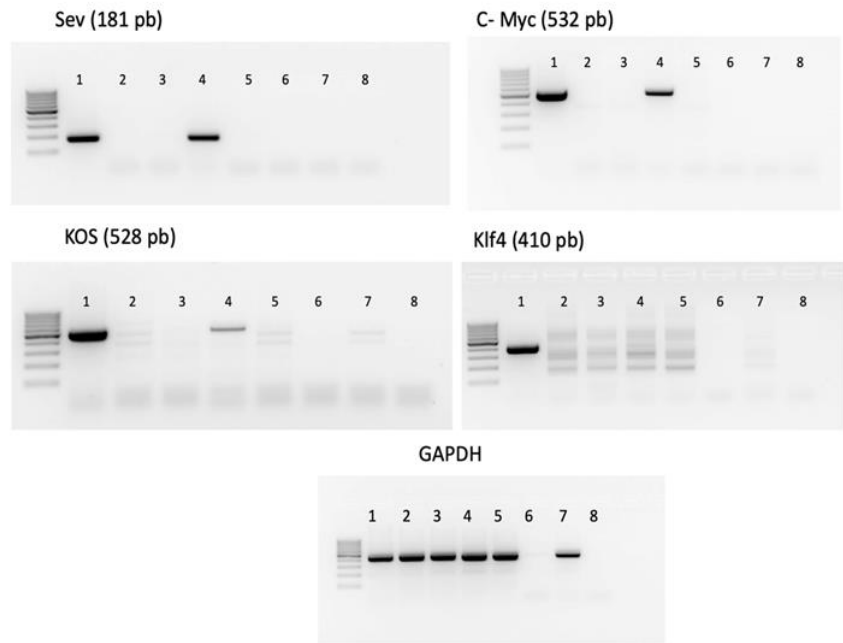


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0
10/08/2022

1. PMM2 FB20484 Sv-Inf, 0,5M cells, 16.02.2021
2. PPMS PBiPS10 Sv4F-1, P11, mg, 01.08.22
3. PPMS PBiPS10 Sv4F-3, P10, mg, 28.07.22
4. PPMS PBiPS10 Sv4F-4, P10, mg, 28.07.22
5. PPMS PBiPS10 Sv4F-6, P10, mg, 28.07.22
6. Sample NO RT
7. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL)
8. H2O



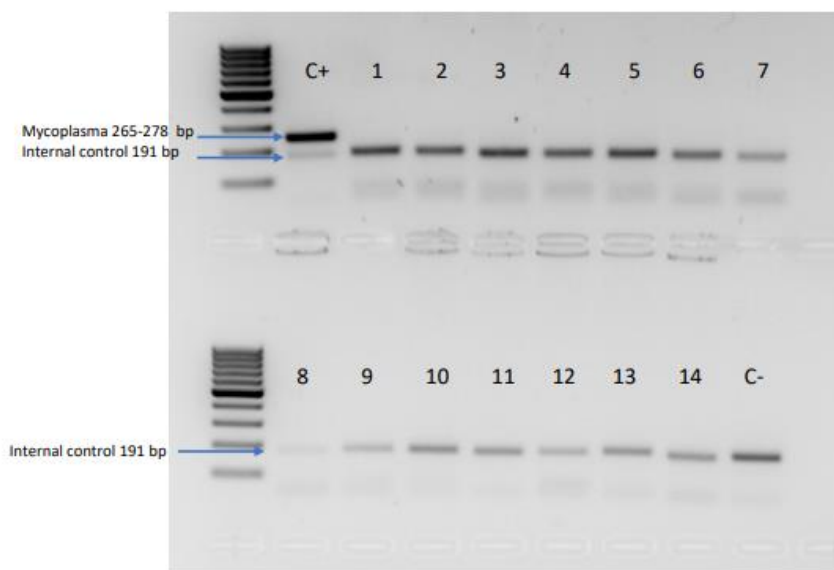
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 31/08/2022



1. JT1-MF22-120
2. JT2-MF21-10
3. JT3-MF21-41
4. PPMS PBiPS10-Sv4F-1 p11
5. PPMS PBiPS10-Sv4F-6 p10
6. PPMS PBiPS9-Sv4F-1 p8
7. PPMS PBiPS9-Sv4F-4 p7
8. PPMS PBiPS9-Sv4F-6 p7
9. PPMS PBiPS9-Sv4F-12 p7
10. LM con
11. LM D8+
12. LM D8 KO
13. LM D1+
14. LM mTsER

P-CMR[C]