



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **PMM2 CDG FiPS01-Sv4F-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: Resultados microsatélites

Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

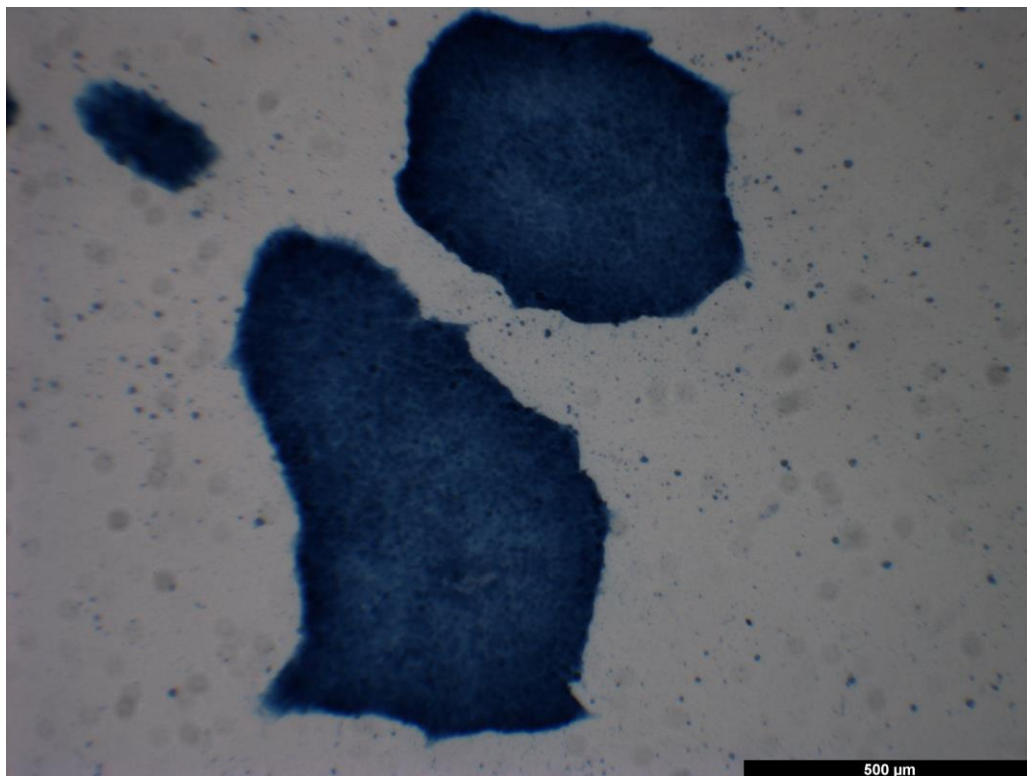
Anexo 6: Comprobación de la presencia de la mutación

Anexo 7: Resultado test de micoplasma

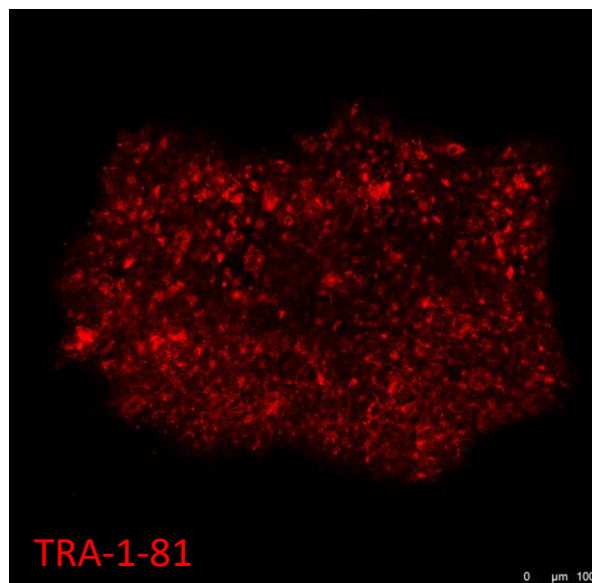
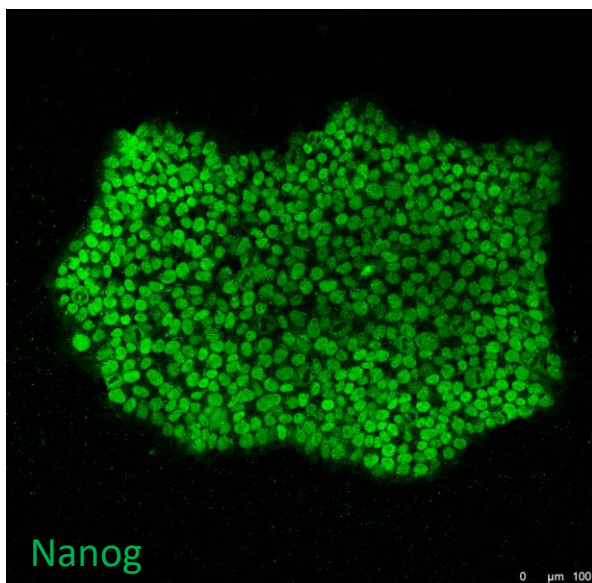


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

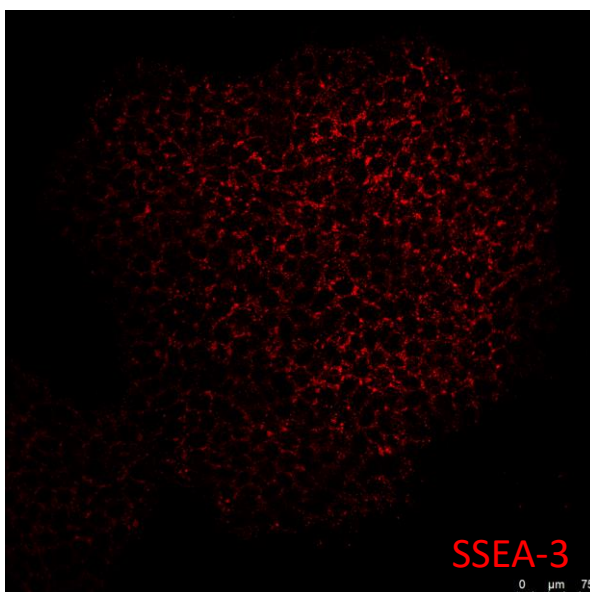
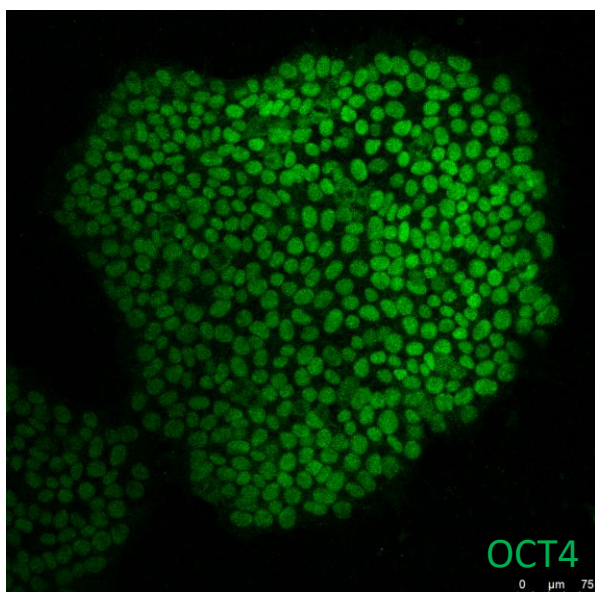


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



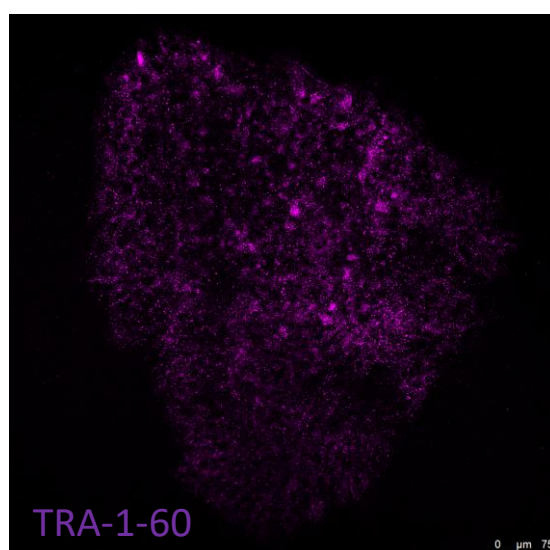
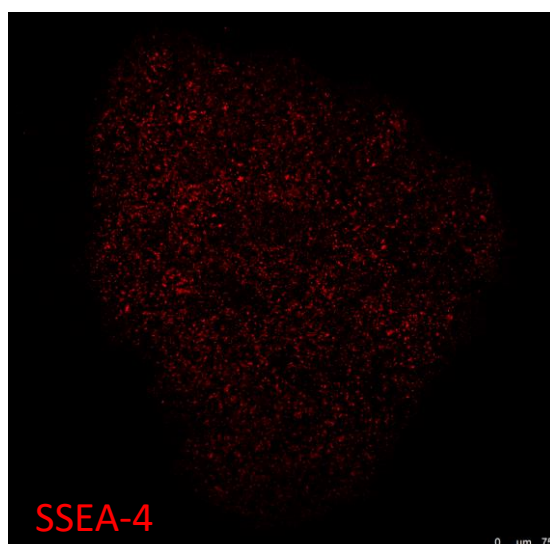
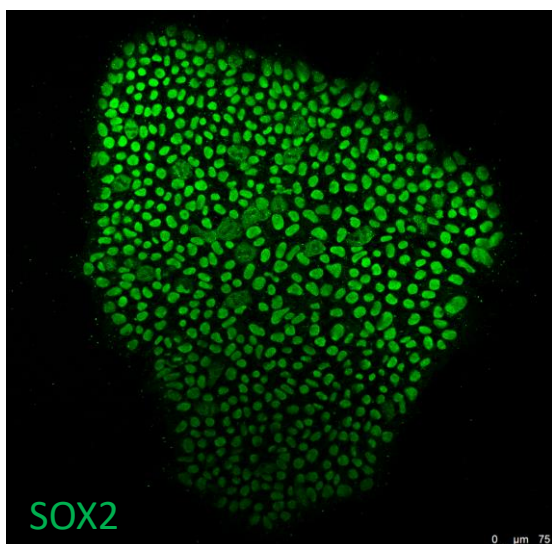
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



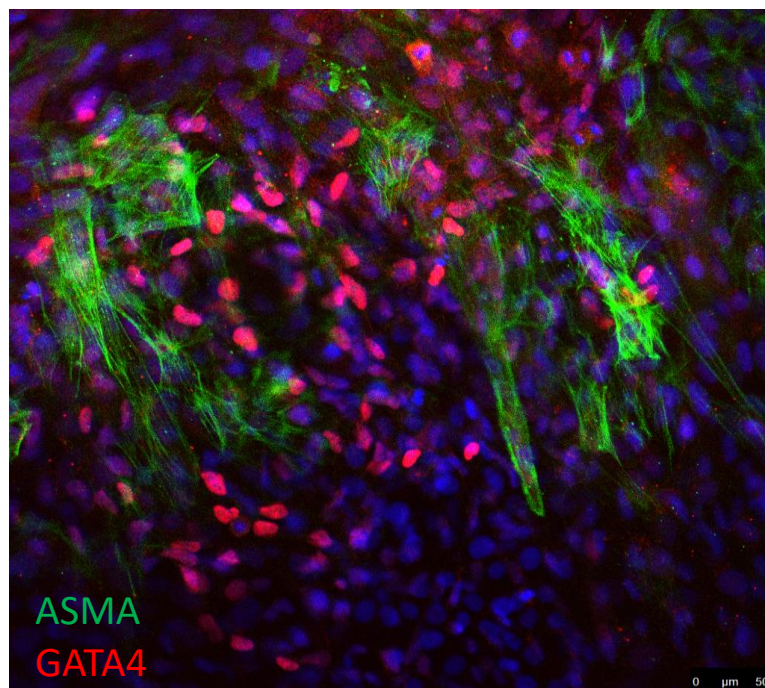
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

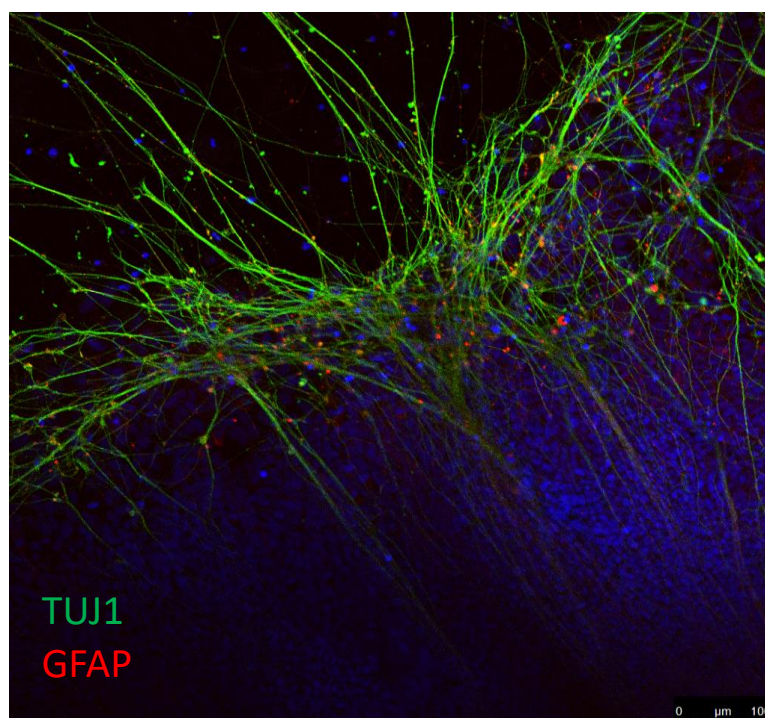


Anexo 2

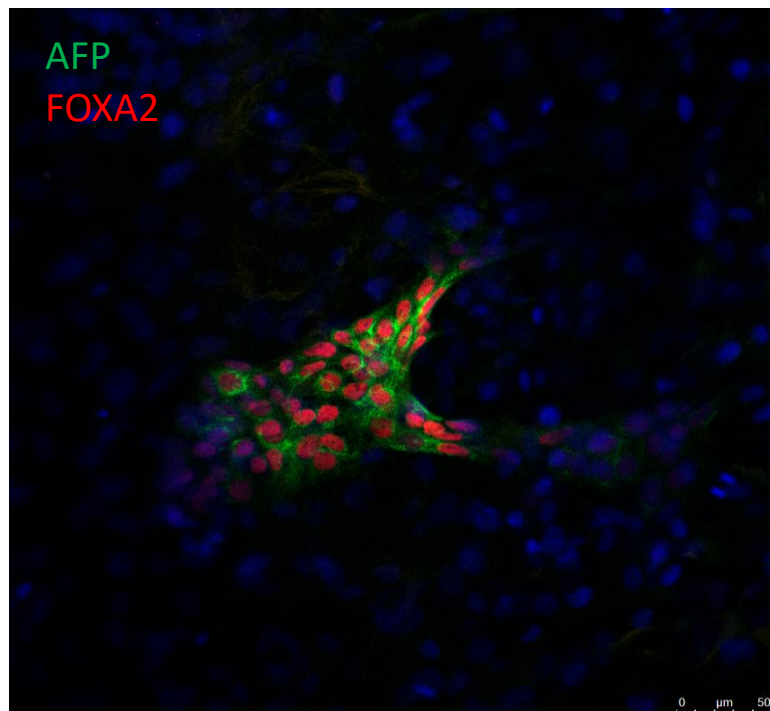
Diferenciación *in vitro*



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 4

Cariotipo

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 22580720

Department: IDIBELL

Name: PMM2 CDG FiPS01-Sv4F-11 p9

Sample: CM

NHC: CT050

Date: 9/28/2022



Case: 22580720 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
PMM2 CDG FiPS01-Sv4F-11 p12	7; 9	29	11	8; 13	8; 9	11; 12	10; 12	X; Y	16; 20	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
Fb 34101 p9	7; 9	29	11	8; 13	8; 9	11; 12	10; 12	X; Y	16; 20	10; 11

Barcelona, a 01 de agosto de 2022

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.

Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

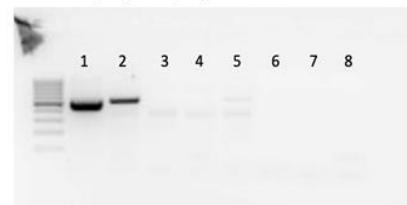
01/09/2022

1. PMM2 FB20484 Sv-Inf, 0,5M cells, 16.02.2021
2. PMM2-CDG FiPS01-Sv4F-7 p7
3. PMM2-CDG FiPS01-Sv4F-11 p7
4. PMM2-CDG FiPS01-Sv4F-12 p7
5. PMM2-CDG FiPS01-Sv4F-21 p7
6. Sample NO RT
7. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL)
8. H2O

Sev (181 pb)



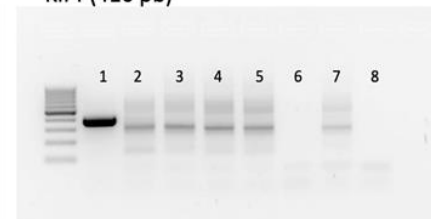
C- Myc (532 pb)



KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



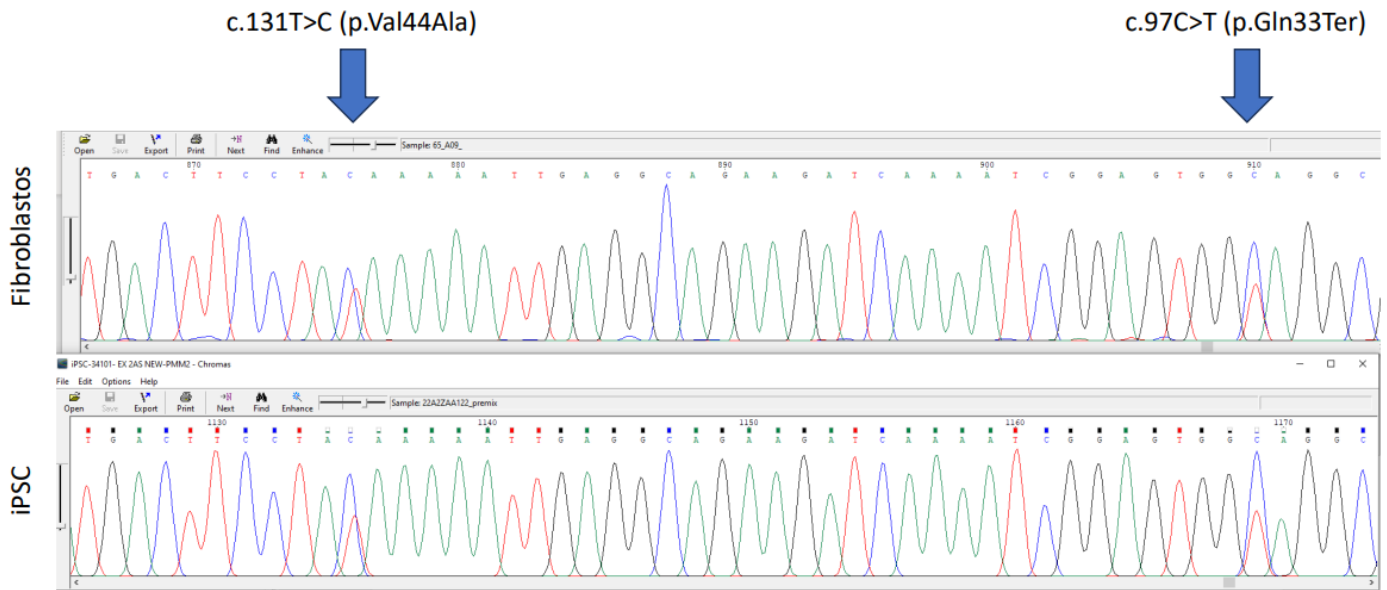
GAPDH



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

Comprobación de la presencia de la mutación



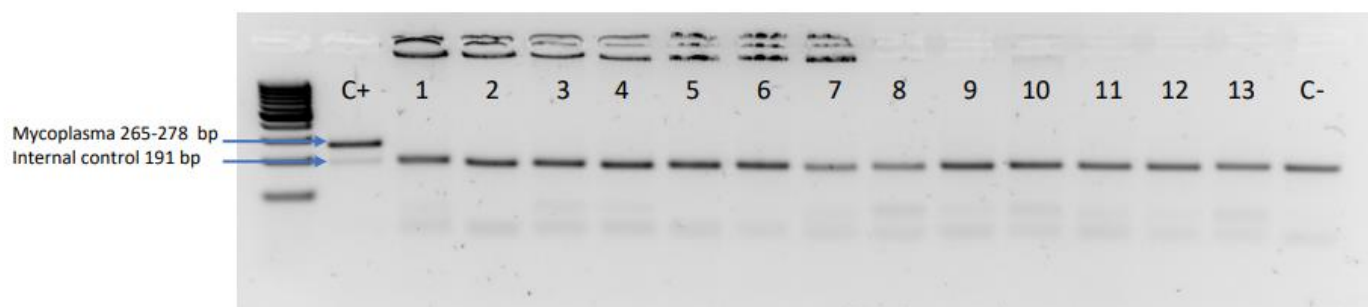
Confirmación de la existencia de las mutaciones en los fibroblastos originales y en la línea de iPSC generadas



Anexo 7

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 14/09/2022



1. PMM2 CDG FiPS01-Sv4F-11 p8
2. PMM2 CDG FiPS01-Sv4F-12 p8