



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **PPMS PBiPS9-Sv4F-12** 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

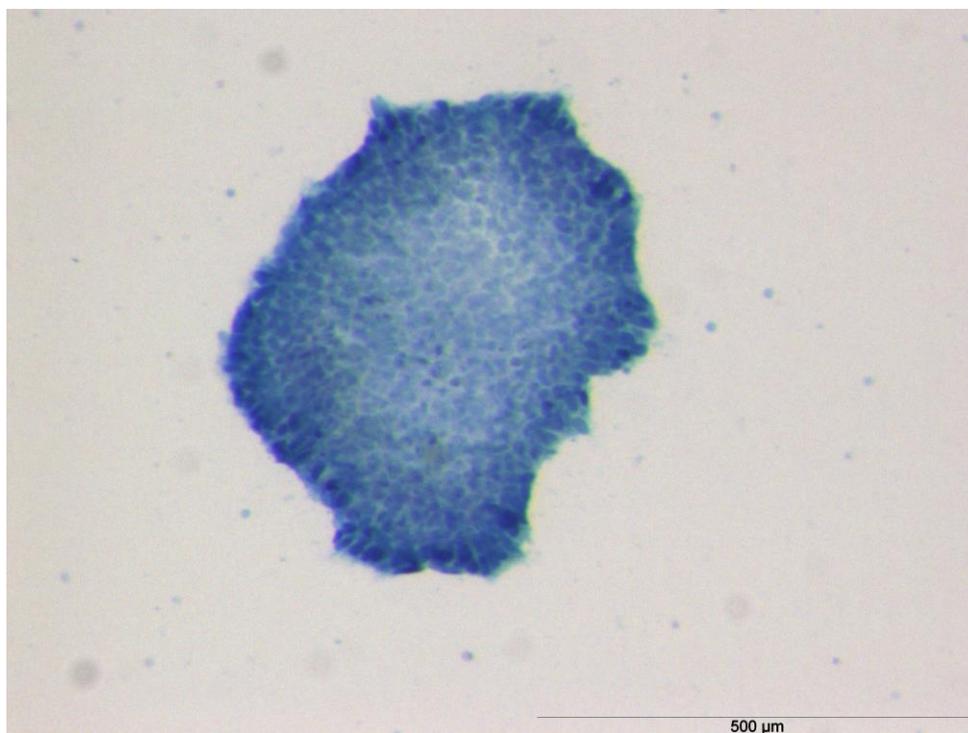
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

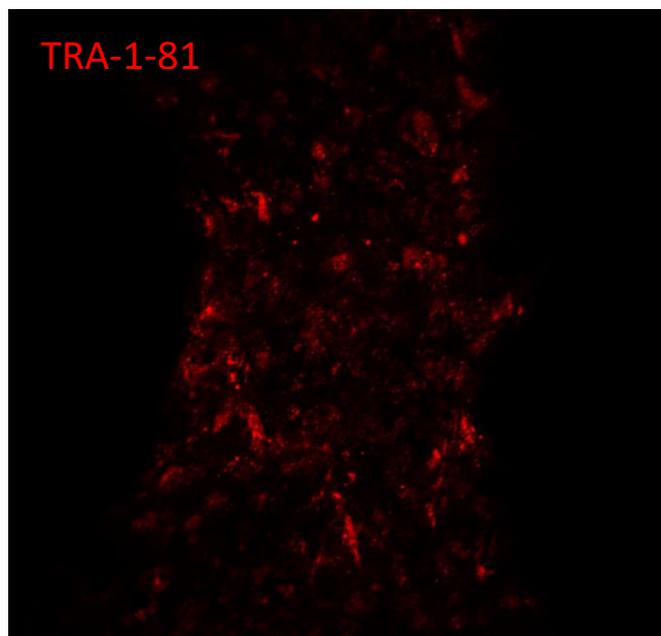
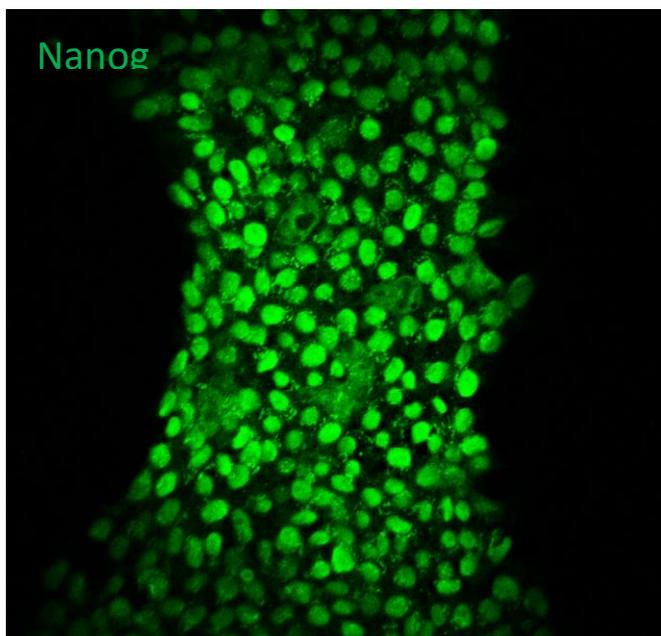


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

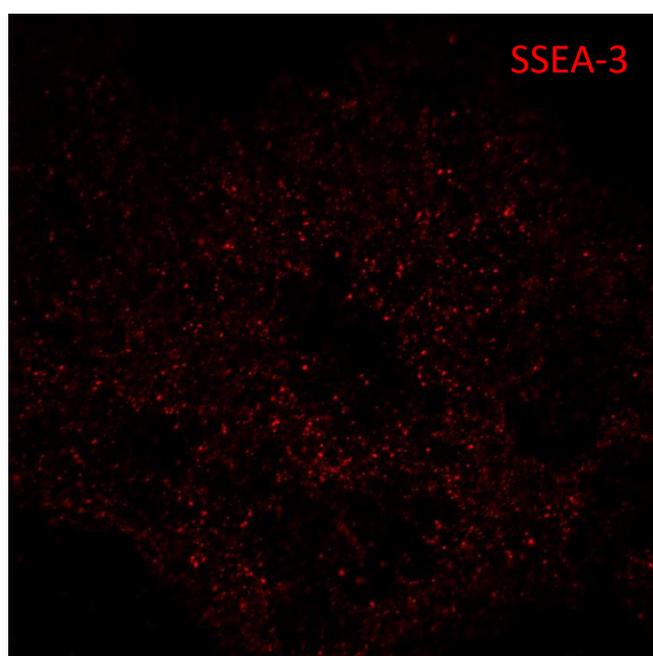
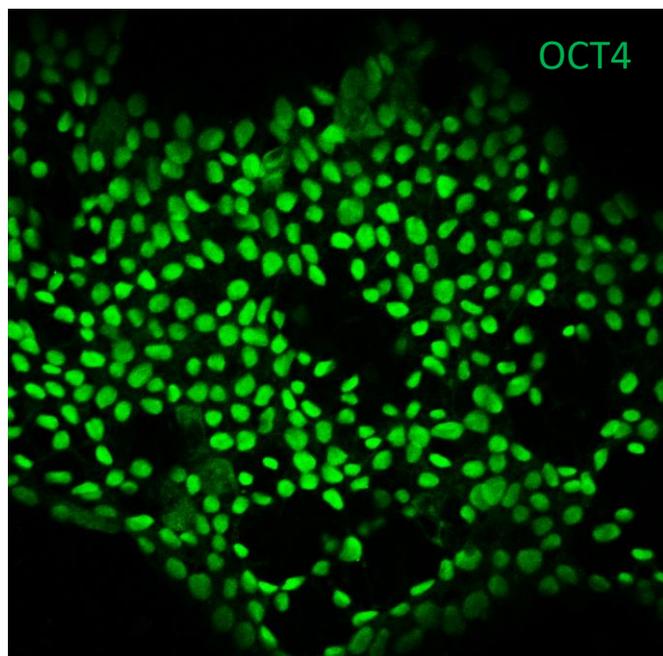


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



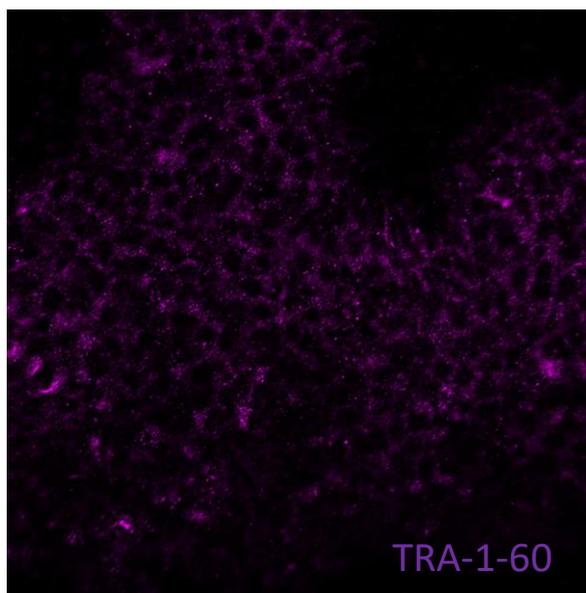
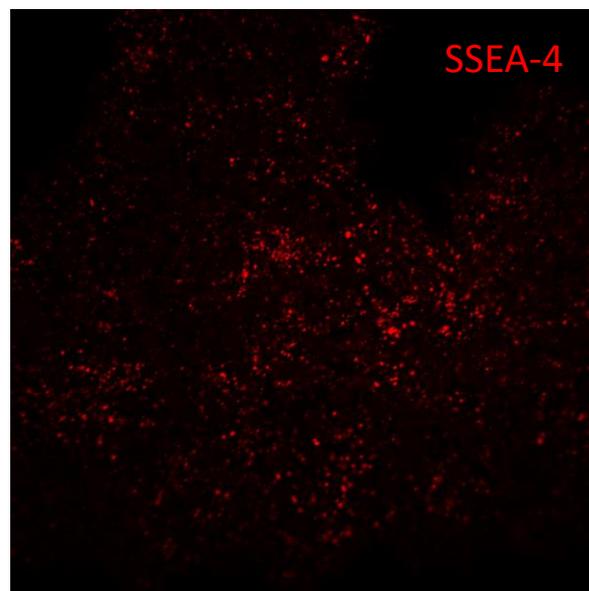
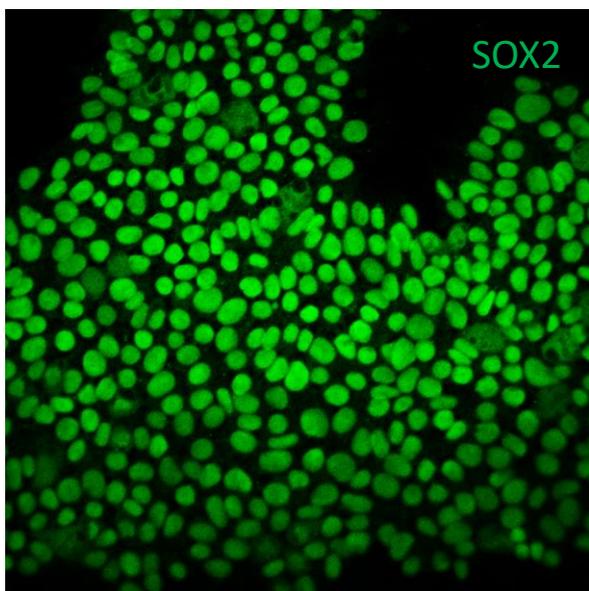
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



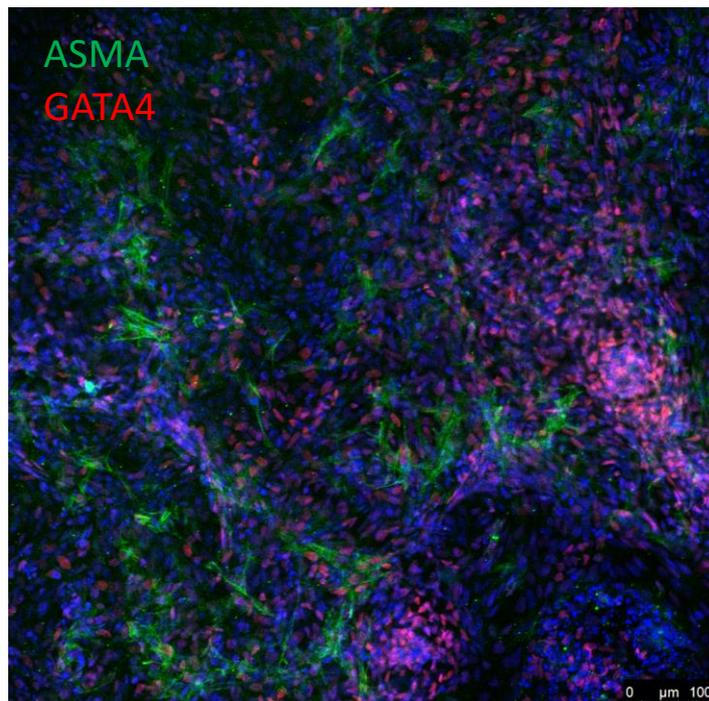
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

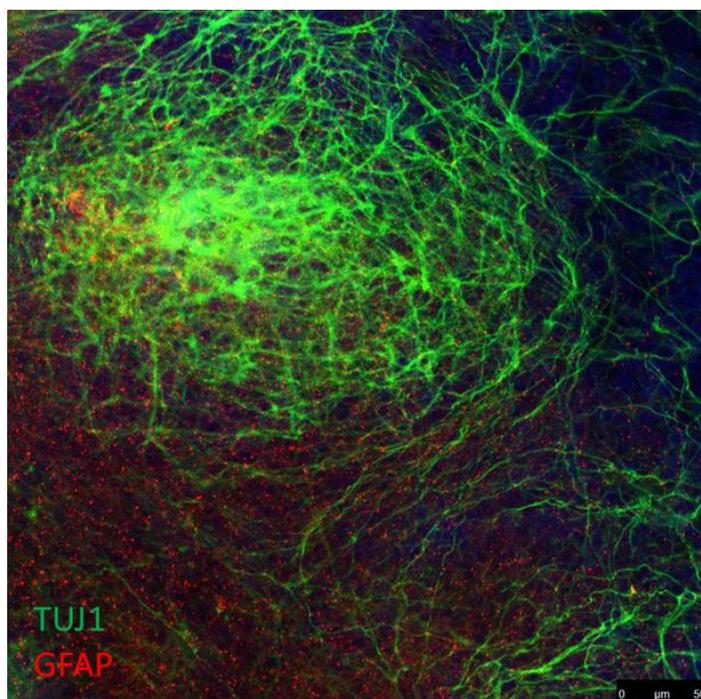


Anexo 2

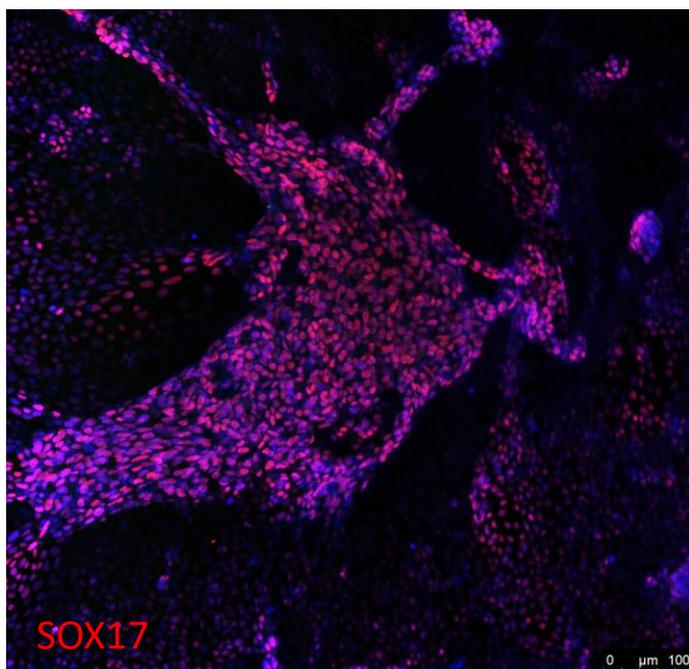
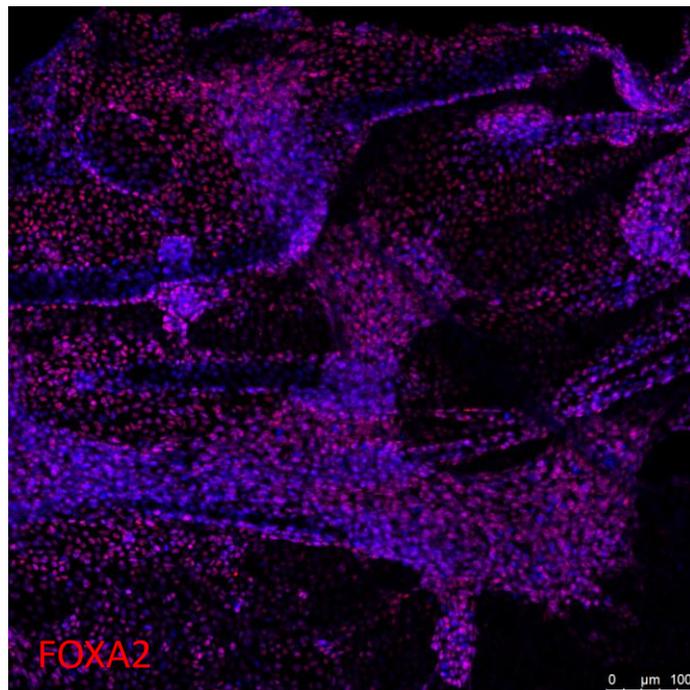
Diferenciación *in vitro*



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 **SOX17**



Anexo 3

Cariotipo

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 23530964

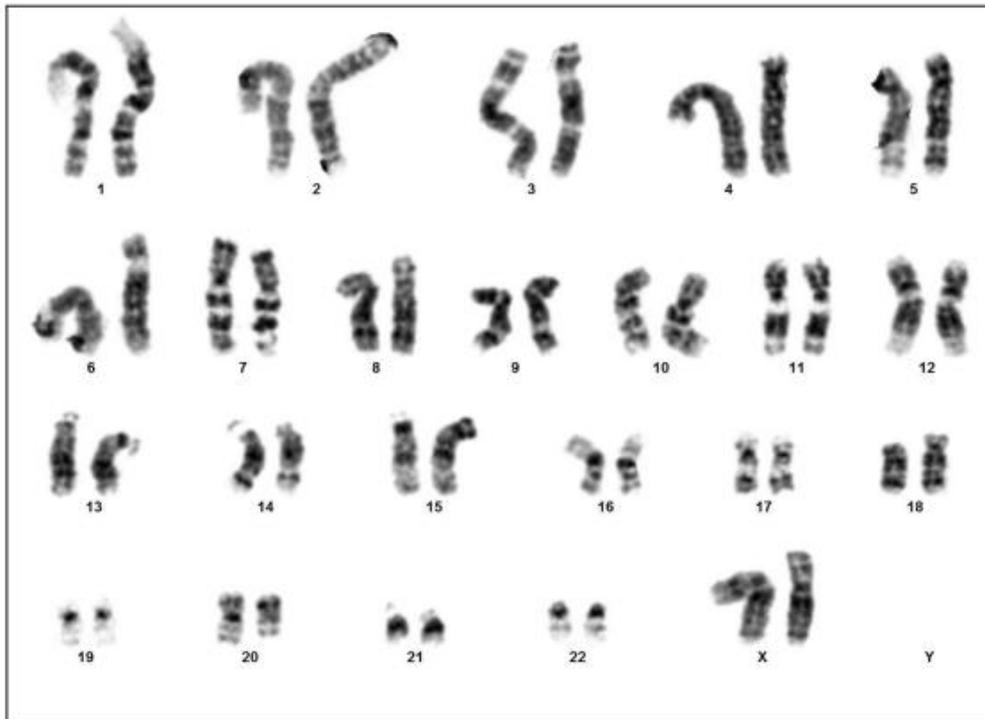
Name: PPMS PBiPS9-SvF-12 p19

NHC: CT0561

Department: IDIBELL

Date: 1/11/2023

Sample: CM



Case: 23530964 Slide: 1 Cell: 2F

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
PPMS PBIPS9_Sv4F_12 p17	8; 9	28; 29	11; 12	11	11; 12	13	10; 12	X	14; 17	8; 11

Barcelona, a 20 de enero de 2023

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 SAP11716566 (MS9) , 01.04.22	8; 9	28; 29	11; 12	11	11; 12	13	10; 12	X	14; 17	8; 11

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.



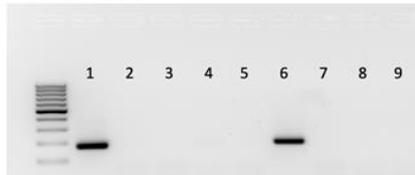
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0
21/09/2022

1. PMM2 FB20484 Sv-Inf.
2. PPMS PBIPS9-Sv4F-1 p12
3. PPMS PBIPS9-Sv4F-4 p10
4. PPMS PBIPS9-Sv4F-6 p9
5. PPMS PBIPS9-Sv4F-12 p10
6. NF STiPS245-Sv4F- 6 p19
7. Sample NO RT
8. NEGATIVE CONTROL
9. H2O

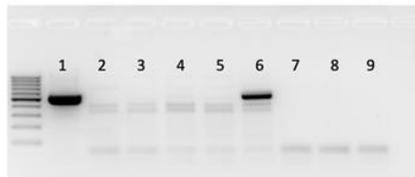
Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



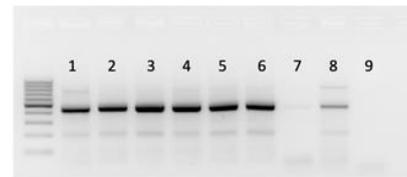
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



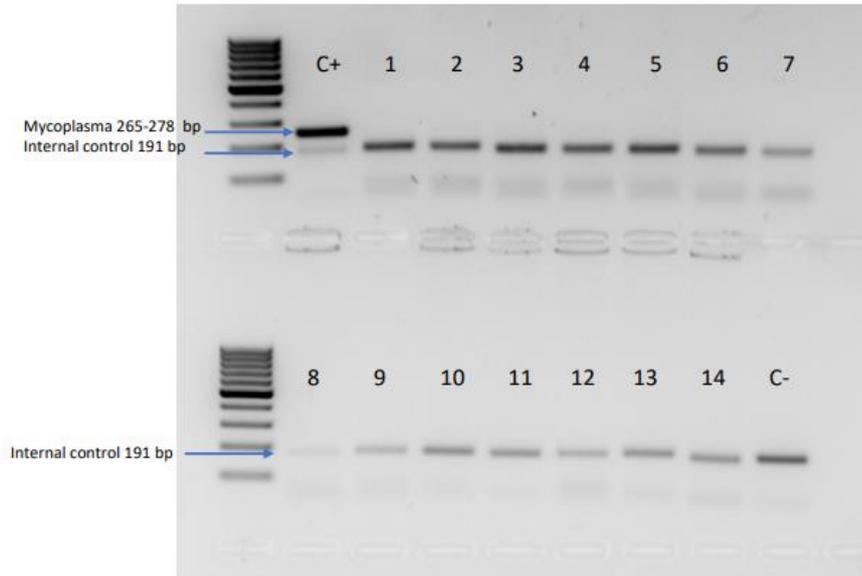
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 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