



# ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **S PBiPS1786\_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

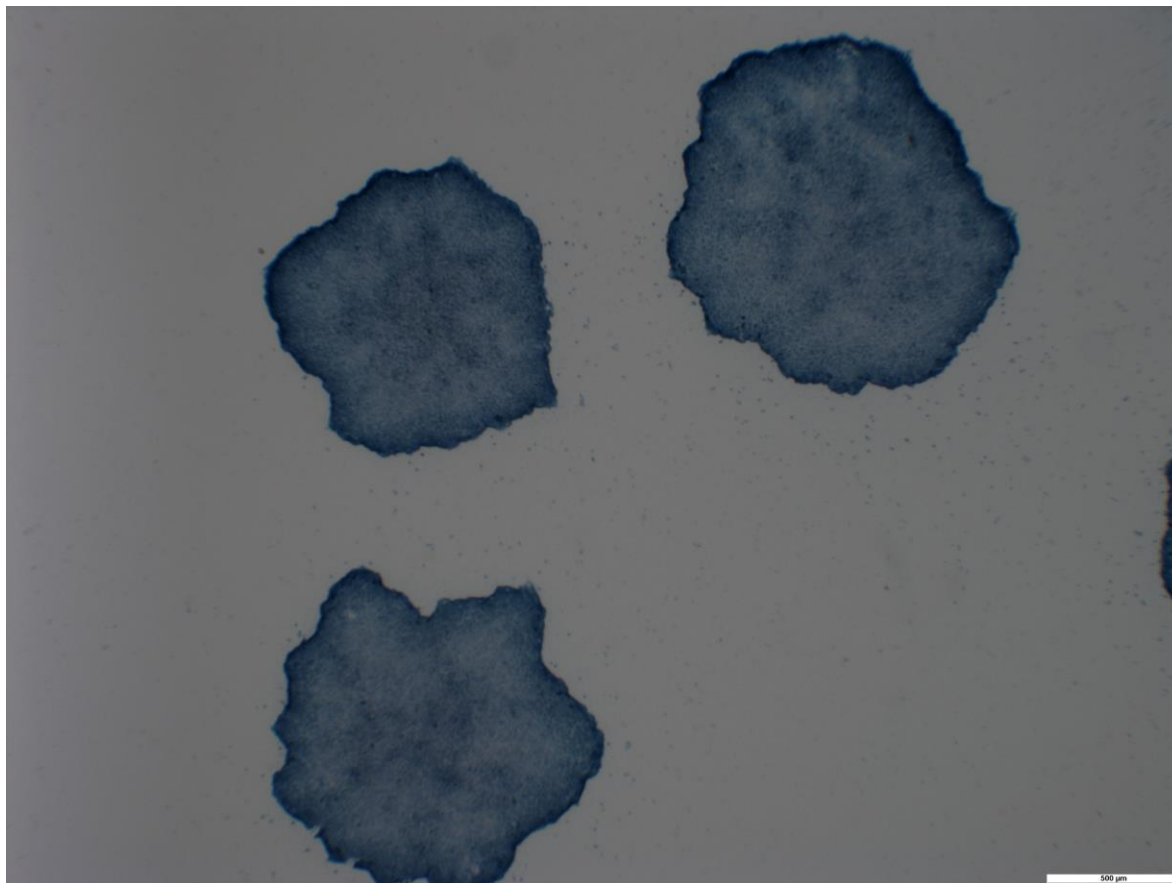
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

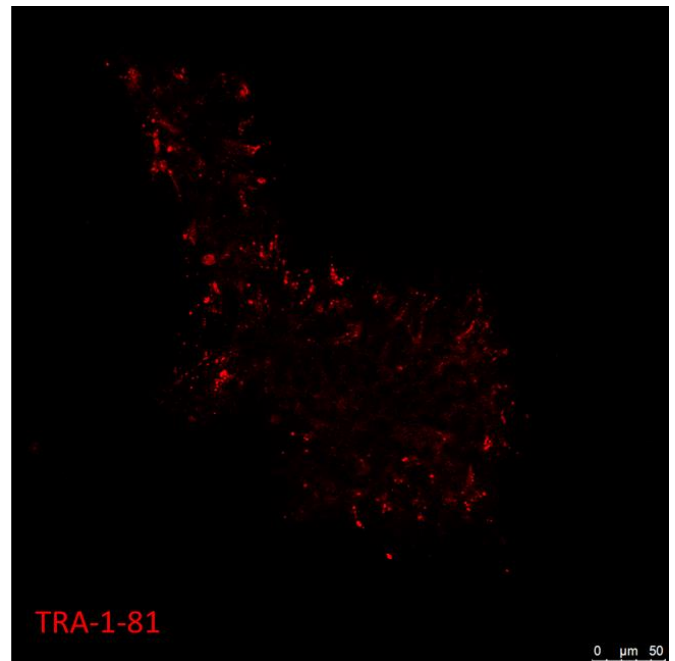
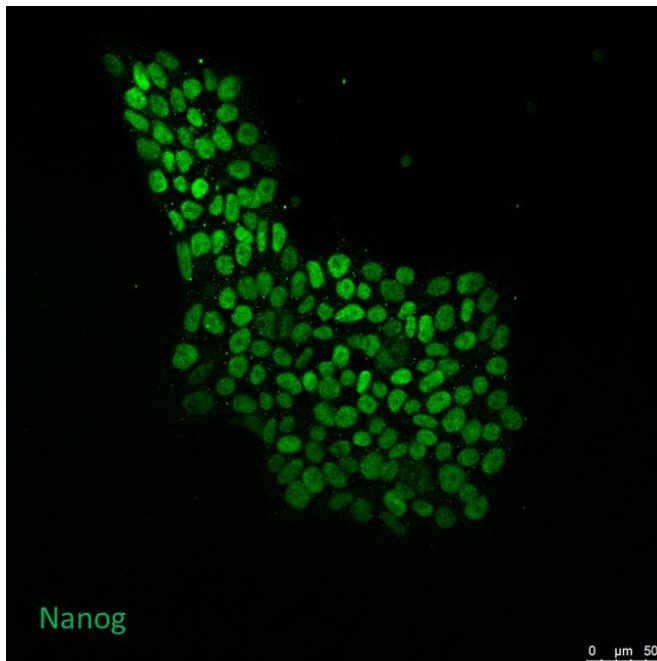


## **Anexo 1**

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

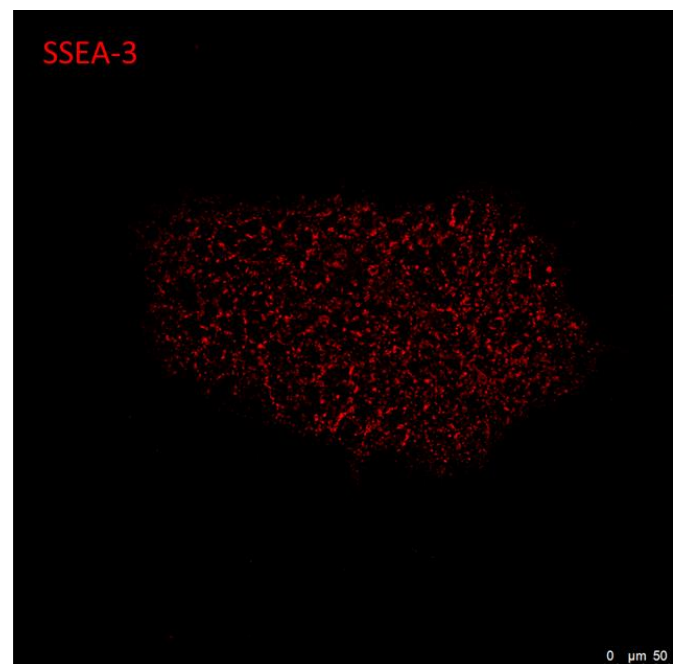
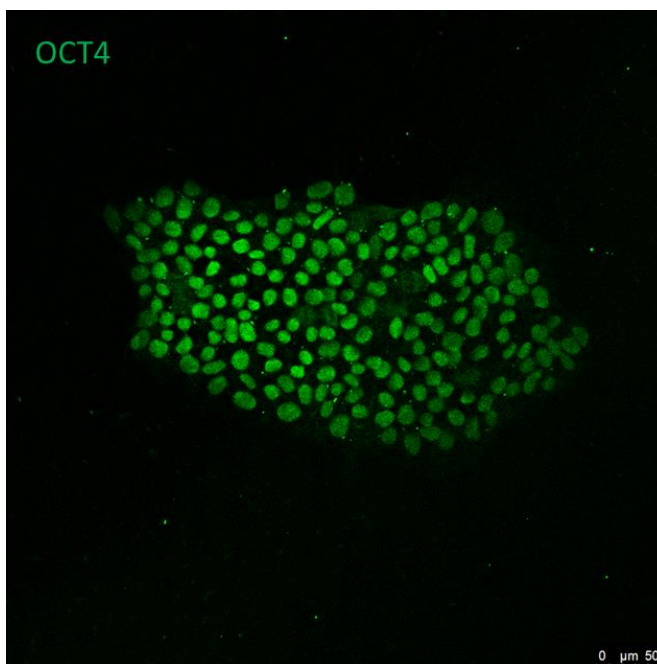


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



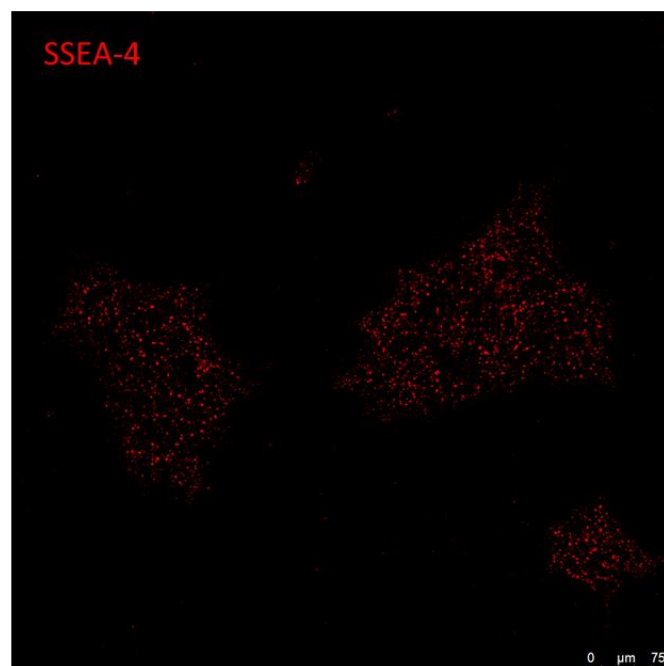
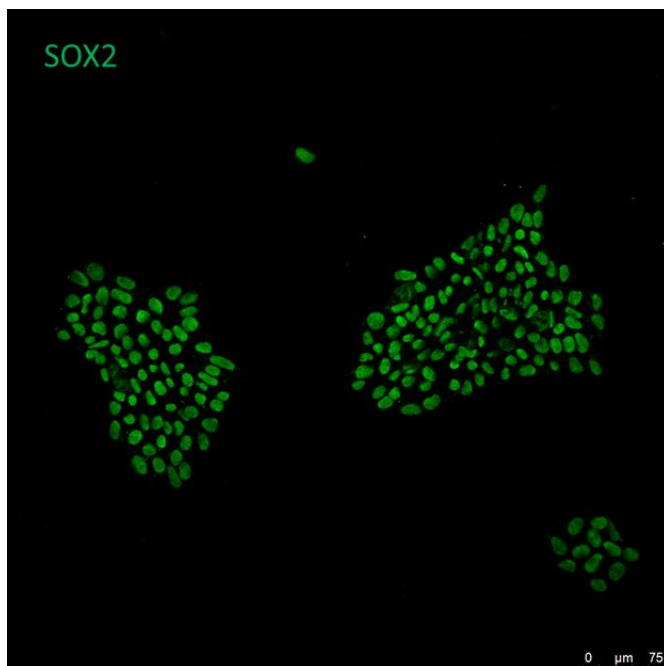
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



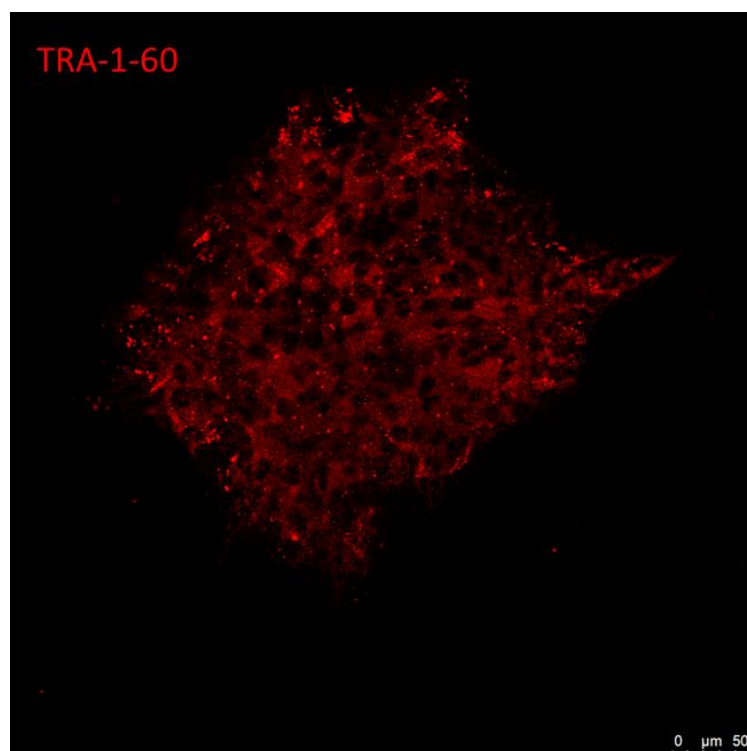
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Sox-2, SSEA-4**

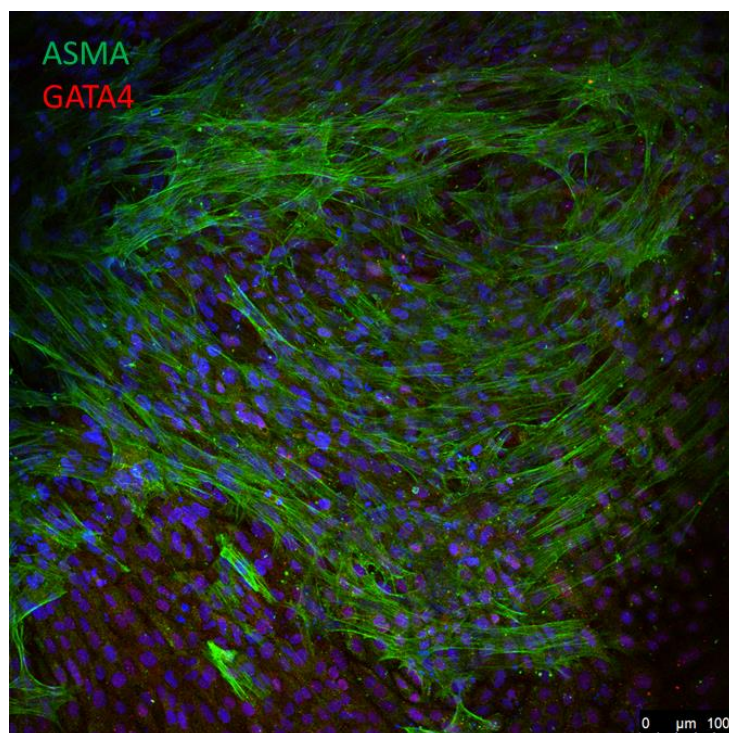


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **TRA1-60**

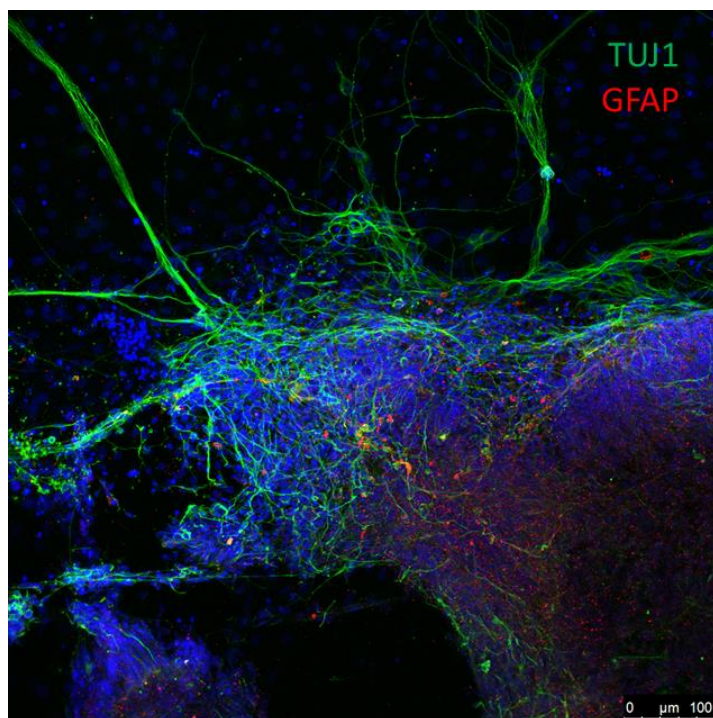


## **Anexo 2**

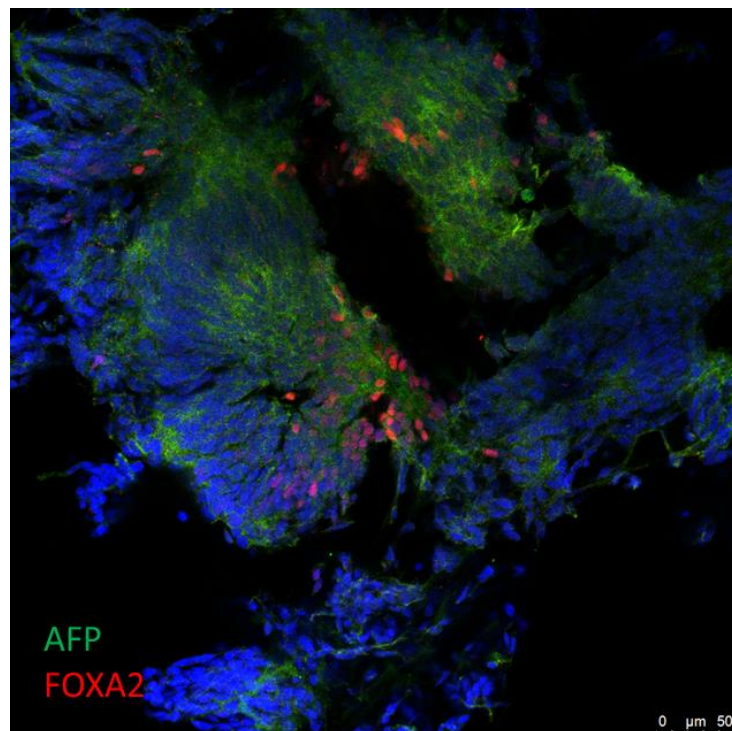
### **Diferenciación *in vitro***



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: 32840894

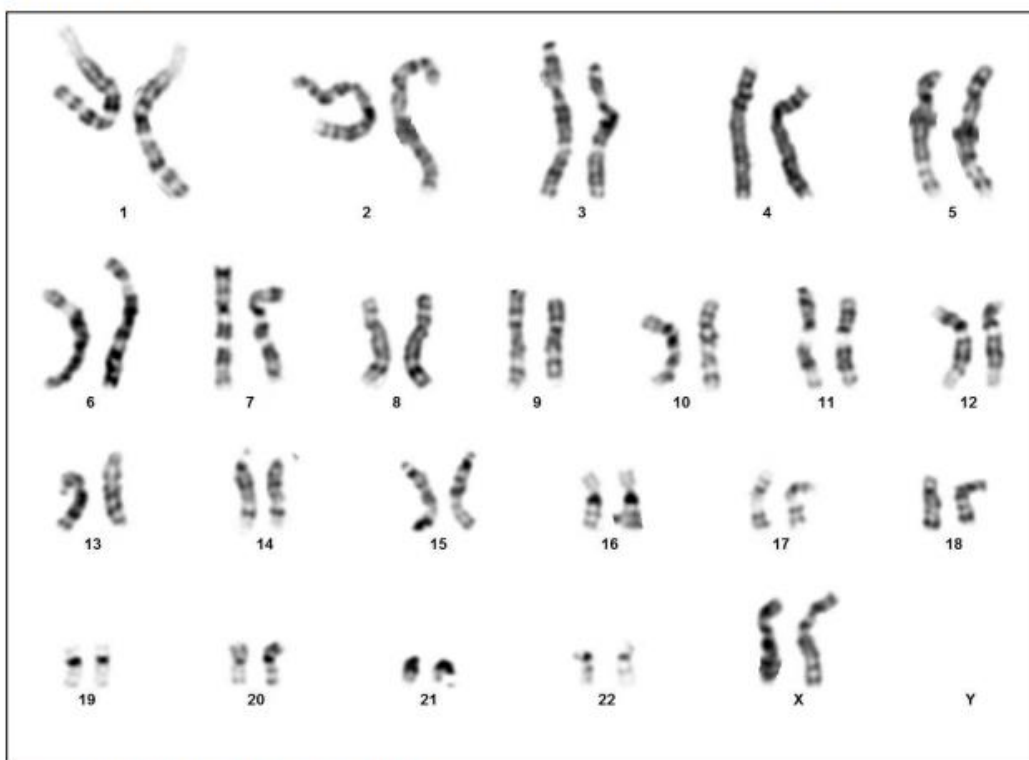
Name: S PBiPS 1786-Sv4F-12 p9

NHC: CT0675

Department: SEXT

Date: 11/2/2023

Sample: CM



Case: 32840894 Slide: 1 Cell: 1F

Result: 46,XX



## **Anexo 4**

### **Resultado microsatélites**

### ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

| <u>Mostra:</u> | <u>Identificació</u>     | <u>ID Ambar</u> | <u>Tipus de mostra</u> |
|----------------|--------------------------|-----------------|------------------------|
|                | S PBIPS 1786-SV4F-12 P13 | 1221799         | Extracte DNA           |

#### Descripció de l'estudi

L'estudi de consisteix en l'anàlisi de microsatèl·lits o "short tandem repeats" (STR) de DNA procedent de determinades línies cel·lulars. El procediment seguit ha estat el següent:

- . PCR - Amplificació de 15 regions de DNA (STR- short tandem repeats) amb els Kit de Genotipat AmpFLSTF Identifiler® Plus PCR Amplification Kit. La combinació d'aquestes 15 regions constitueix el perfil genètic (impressió digital genètica)
- . Electroforesi capil·lar – Lectura del perfil genètic de la mostra.
- . Software d'anàlisi – Assignació del perfil genètic.

#### Resultats

| <u>Marcadors Genètics</u> | <u>Localització cromosòmica</u> | <u>Al·lels mostra</u><br>1221799 |      |
|---------------------------|---------------------------------|----------------------------------|------|
| D8S1179                   | 8                               | 13                               | 14   |
| D21S11                    | 21q11.2-q21                     | 30                               | 31.2 |
| D7S820                    | 7q11.21-22                      | 10                               | 10   |
| CSF1PO                    | 5q33.3-34                       | 9                                | 10   |
| D3S1358                   | 3p                              | 18                               | 18   |
| TH01                      | 11p15.5                         | 7                                | 9    |
| D13S317                   | 13q22-31                        | 10                               | 13   |
| D16S539                   | 16q24-qter                      | 11                               | 12   |
| D2S1338                   | 2q35-37.1                       | 18                               | 18   |
| D19S433                   | 19q12-13.1                      | 12.2                             | 13   |
| VWA                       | 12p12-pter                      | 17                               | 18   |
| TPOX                      | 2p23-2per                       | 8                                | 8    |
| D18S51                    | 18q21.3                         | 11                               | 14   |
| D5S818                    | 5q21-31                         | 11                               | 12   |
| FGA                       | 4q28                            | 21                               | 21   |
| AMELOGENINA*              | X: p22.1-22.3- Y: p11.2         | X                                | X    |

\*Amelogenina: Resultat al·lel relatiu al sexe cromosòmic: XX (sexe femení); XY (sexe masculí)

L'Hospitalet del Llobregat, 17/01/2024



### ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

|                |                      |                 |                        |
|----------------|----------------------|-----------------|------------------------|
| <b>Mostra:</b> | <b>Identificació</b> | <b>ID Ambar</b> | <b>Tipus de mostra</b> |
|                | PBMC1786_M005        | 1221801         | Extracte DNA           |

#### Descripció de l'estudi

L'estudi de consisteix en l'anàlisi de microsatèl·lits o "short tandem repeats" (STR) de DNA procedent determinades línies cel·lulars. El procediment seguit ha estat el següent:

- . PCR - Amplificació de 15 regions de DNA (STR- short tandem repeats) amb els Kit de Genotipat AmpFLSTR® Identifiler® Plus PCR Amplification Kit. La combinació d'aquestes 15 regions constitueix el perfil genètic (impressió digital genètica)
- . Electroforesi capil·lar – Lectura del perfil genètic de la mostra.
- . Software d'anàlisi – Assignació del perfil genètic.

#### Resultats

| Marcadors Genètics | Localització cromosòmica | Al·lels mostra<br>1221801 |      |
|--------------------|--------------------------|---------------------------|------|
| D8S1179            | 8                        | 13                        | 14   |
| D21S11             | 21q11.2-q21              | 30                        | 31.2 |
| D7S820             | 7q11.21-22               | 10                        | 10   |
| CSF1PO             | 5q33.3-34                | 9                         | 10   |
| D3S1358            | 3p                       | 18                        | 18   |
| TH01               | 11p15.5                  | 7                         | 9    |
| D13S317            | 13q22-31                 | 10                        | 13   |
| D16S539            | 16q24-qter               | 11                        | 12   |
| D2S1338            | 2q35-37.1                | 18                        | 18   |
| D19S433            | 19q12-13.1               | 12.2                      | 13   |
| VWA                | 12p12-pter               | 17                        | 18   |
| TPOX               | 2p23-2per                | 8                         | 8    |
| D18S51             | 18q21.3                  | 11                        | 14   |
| D5S818             | 5q21-31                  | 11                        | 12   |
| FGA                | 4q28                     | 21                        | 21   |
| AMELOGENINA*       | X: p22.1-22.3- Y: p11.2  | X                         | X    |

\*Amelogenina: Resultat al·lel relatiu al sexe cromosòmic: XX (sexe femení); XY (sexe masculí)

L'Hospitalet del Llobregat, 25/01/2024



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



## **Anexo 5**

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

## RT-PCR SENDAI 2.0

22/09/23

1. POSITIVE CONTROL
2. S\_PBiPSP1580\_Sv4F-1 p8
3. S\_PBiPSP1580\_Sv4F-3 p7
4. S\_PBiPSP1580\_Sv4F-7 p6
5. S\_PBiPSP1786\_Sv4F-12 p7
6. S\_PBiPSP1786\_Sv4F-14 p6
7. S\_PBiPSP1786\_Sv4F-15 p7
8. Sample NO RT
9. NEGATIVE CONTROL
10. H<sub>2</sub>O

Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



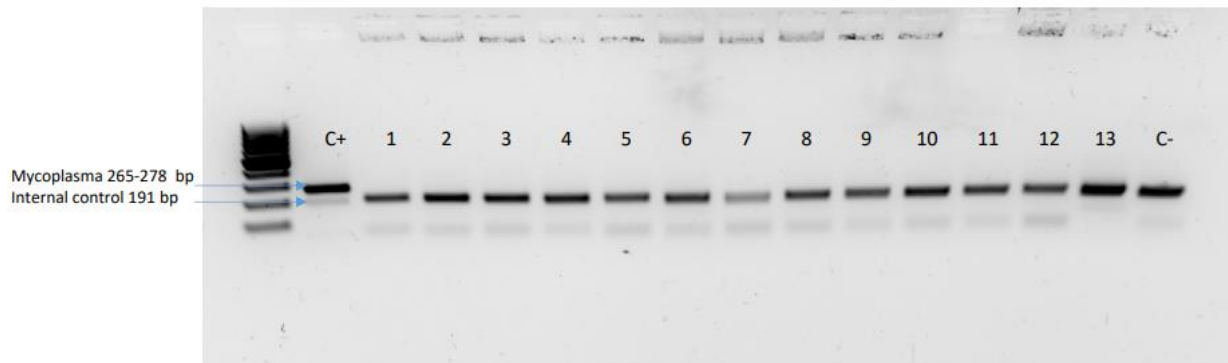
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



## **Anexo 6**

### **Resultado test de micoplasma**

**Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 15/11/2023**



13. S PBiPS 1786-Sv4F-12 p9