



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **S PBiPS1919-Sv4F-14** 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

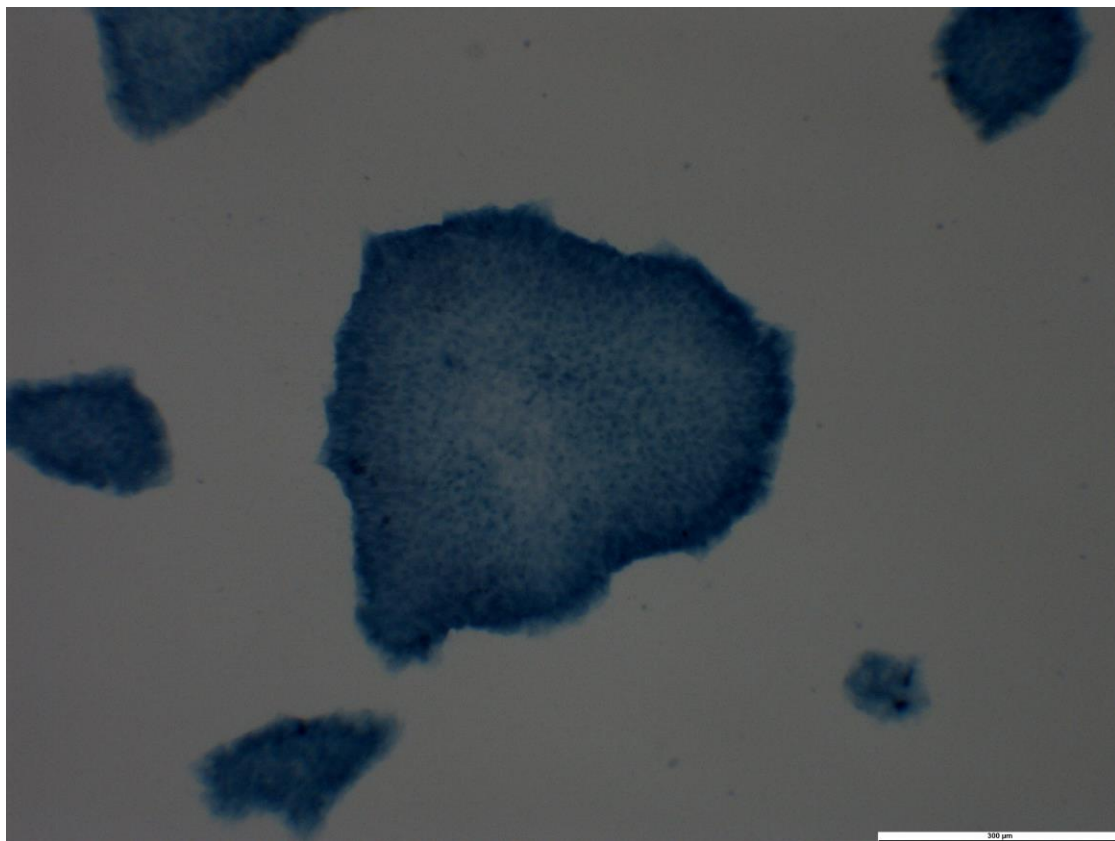
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

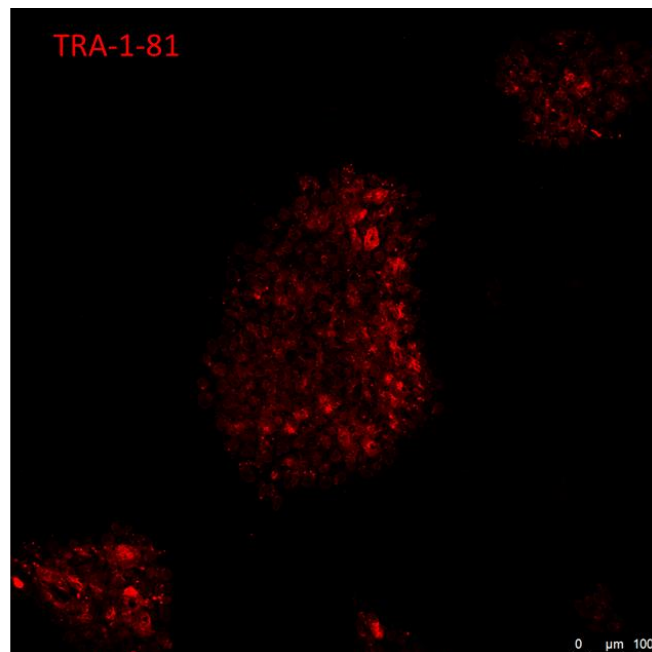
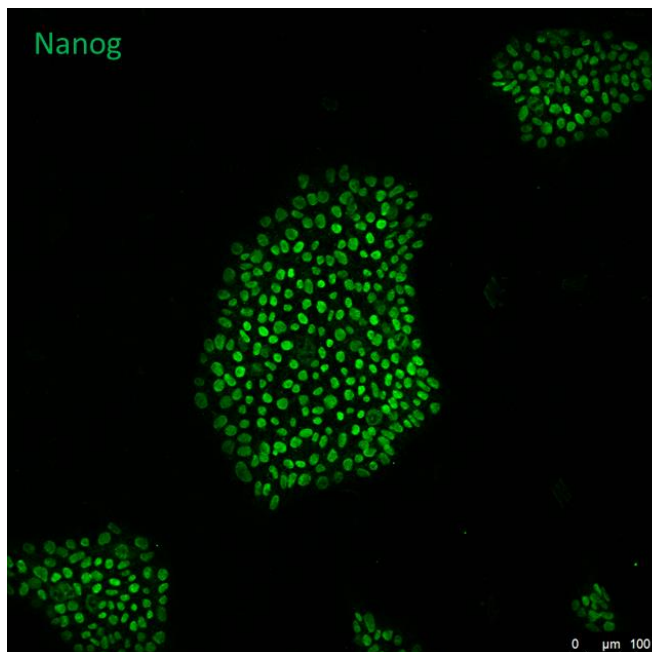


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

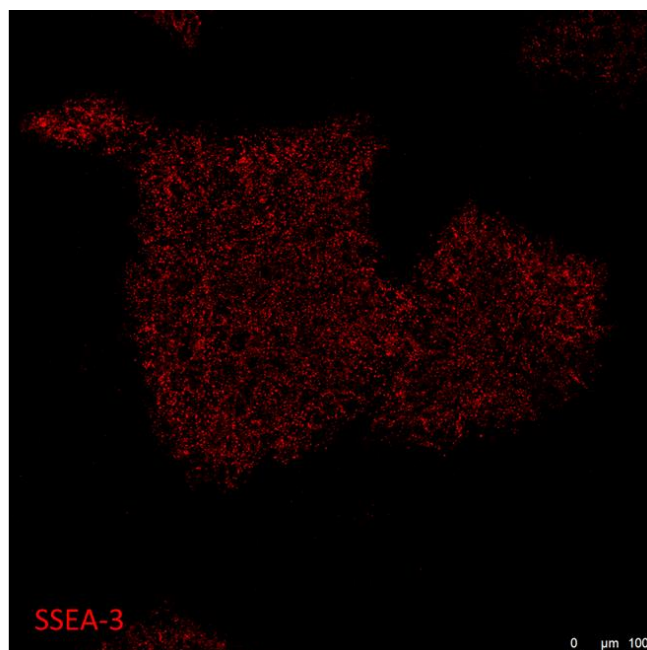
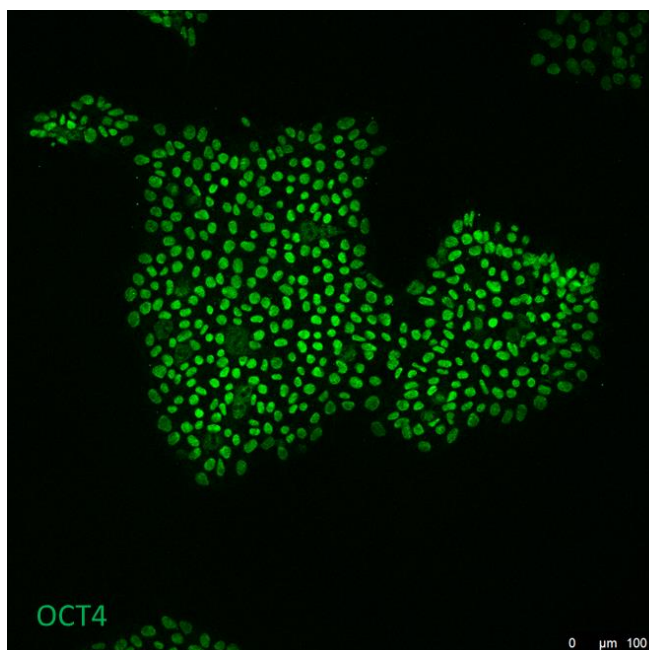


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



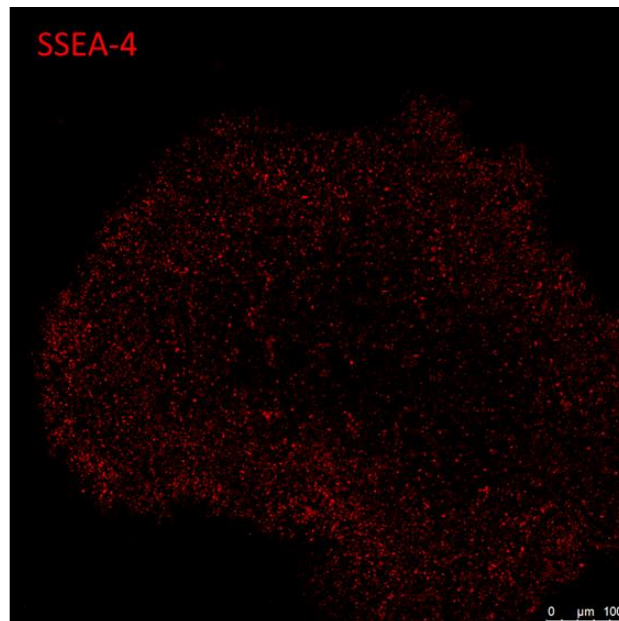
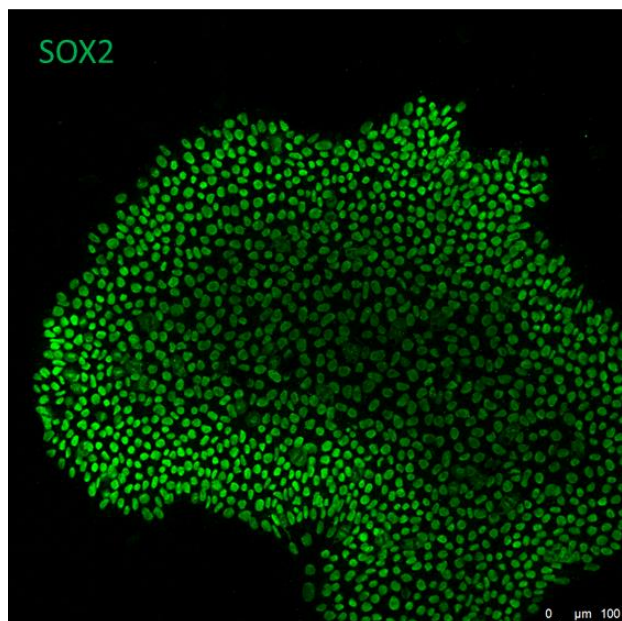
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



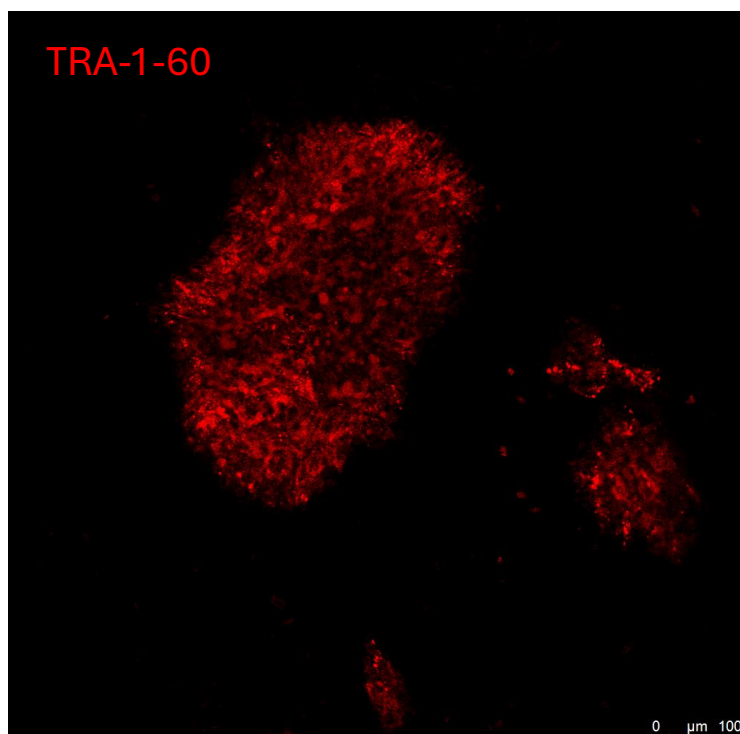
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2 y SSEA-4



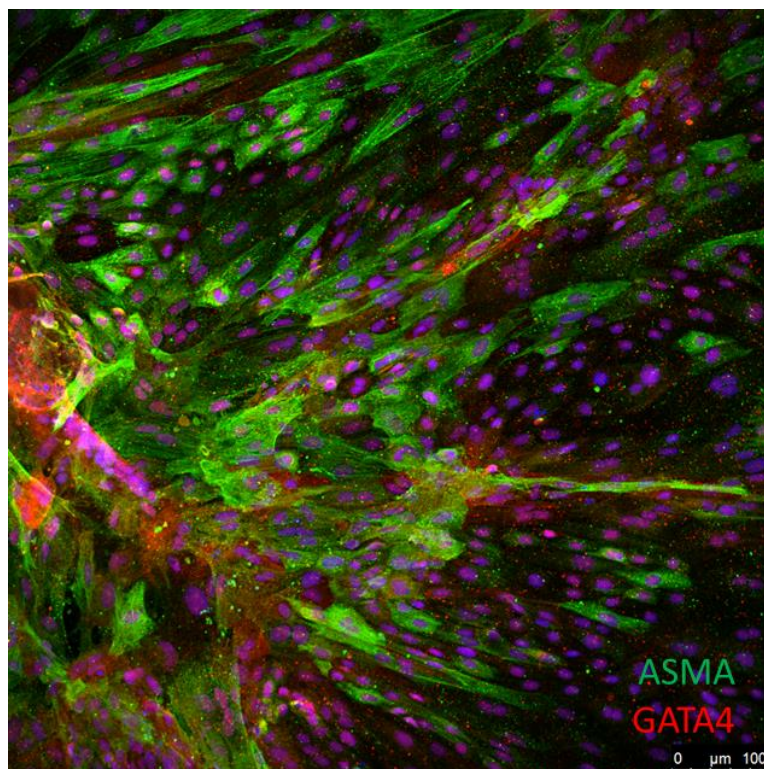
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

TRA1-60

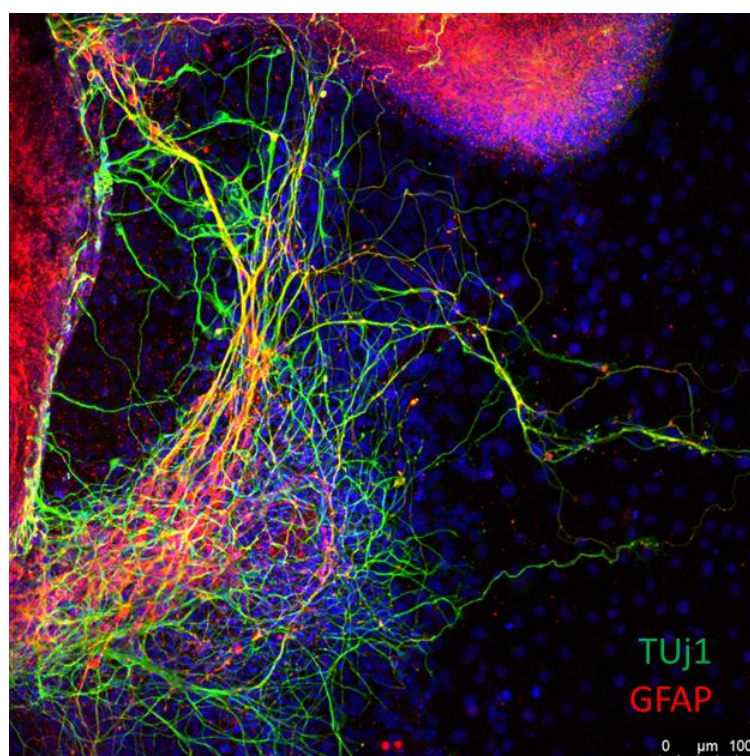


Anexo 2

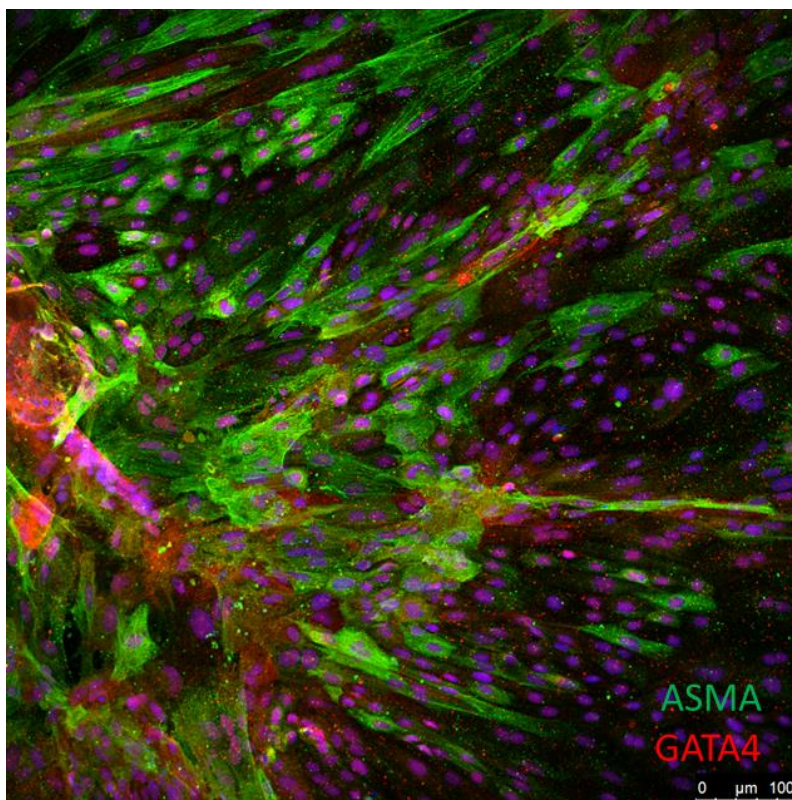
Diferenciación *in vitro*



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: 41560874

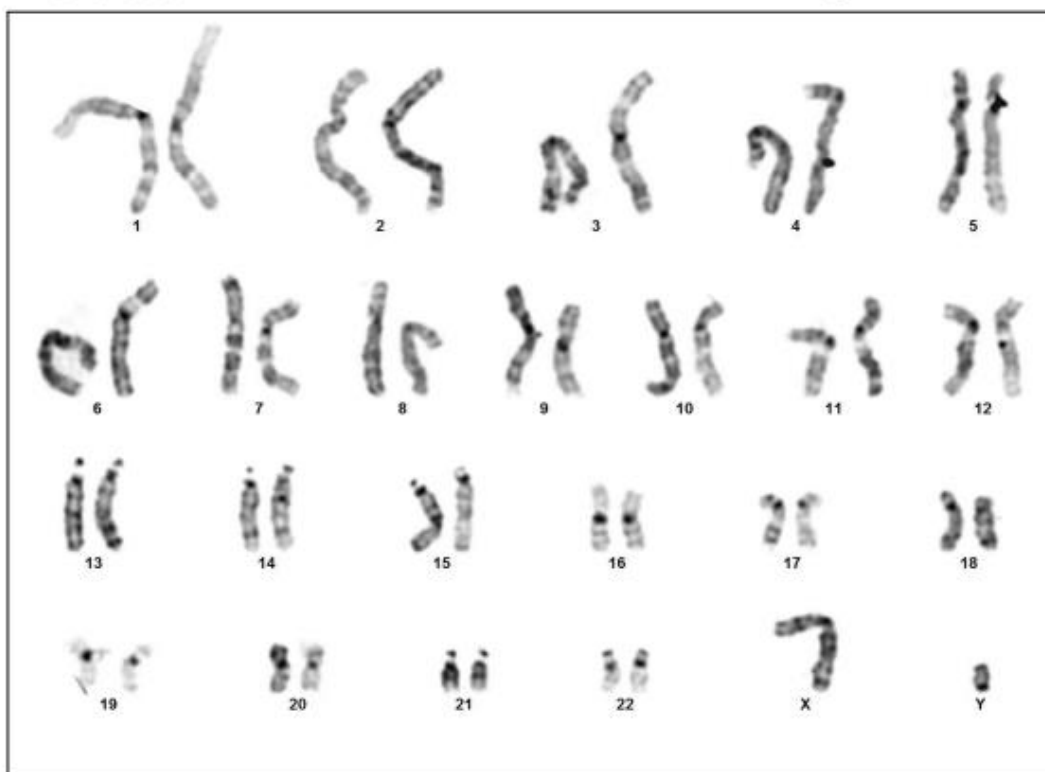
Name: S PBiPS1919-Sv4F-14 p13

NHC: CT0806

Department: IDIBELL

Date: 6/18/2024

Sample: CM



Case: 41560874 Slide: 1 Cell: 1F

Result: 46,XY



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 1919-SV4F-14 P12	1335128	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® Identifier® 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 1335128	
D8S1179	8	11	15
D21S11	21q11.2-q21	30	33,2
D7S820	7q11.21-22	10	11
CSF1PO	5q33.3-34	12	12
D3S1358	3p	15	15
TH01	11p15.5	9	9,3
D13S317	13q22-31	11	12
D16S539	16q24-qter	11	11
D2S1338	2q35-37.1	21	24
D19S433	19q12-13.1	13	13
VWA	12p12-pter	14	18
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	16	18
D5S818	5q21-31	9	12
FGA	4q28	26	26
AMELOGENINA*	X: p22.1-22.3- Y: p11.2	X	Y

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

L'Hospitalet del Llobregat, 24/07/2024



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació PB BM 1919-M007	ID Ambar 1335109	Tipus de mostra 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® Identifier® 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	
		1335109	
D8S1179	8	11	15
D21S11	21q11.2-q21	30	33.2
D7S820	7q11.21-22	10	11
CSF1PO	5q33.3-34	12	12
D3S1358	3p	15	15
TH01	11p15.5	9	9.3
D13S317	13q22-31	11	12
D16S539	16q24-qter	11	11
D2S1338	2q35-37.1	21	24
D19S433	19q12-13.1	13	13
VWA	12p12-pter	14	18
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	16	18
D5S818	5q21-31	9	12
FGA	4q28	26	26
AMELOGENINA*	X: p22.1-22.3- Y: p11.2	X	Y

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

L'Hospitalet del Llobregat, 19/03/2024



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

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



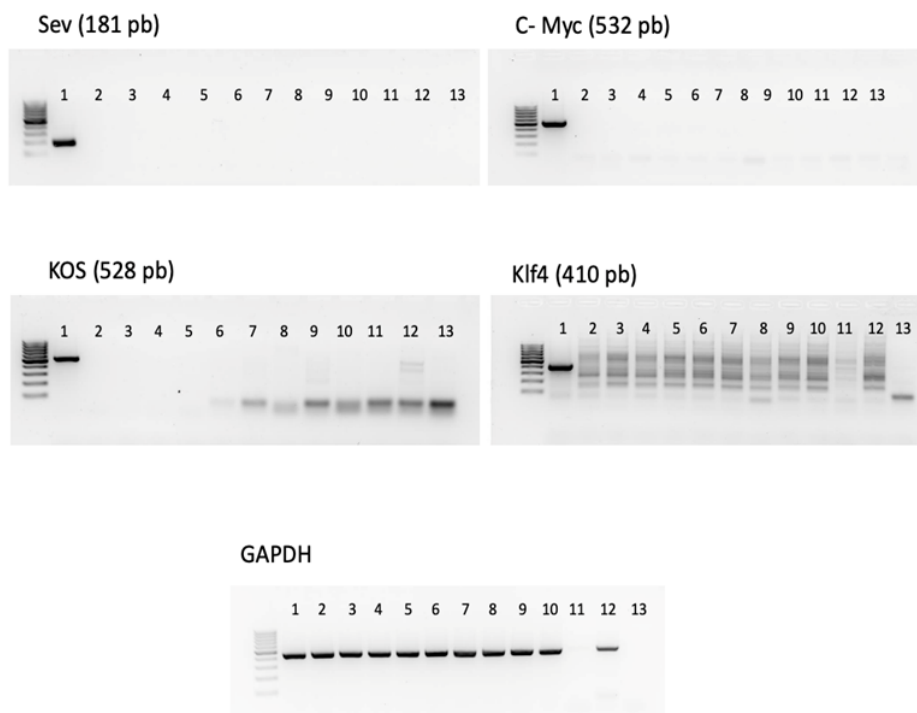
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

08/08/2024

1. Fb Sv-infected
2. ATTR-CM PBiPS5 Sv4F-2, p8, 02.08.24
3. ATTR-CM PBiPS5 Sv4F-3, p9, 01.08.24
4. ATTR-CM PBiPS5 Sv4F-5, p8, 31.07.24
5. ATTR-CM PBiPS5 Sv4F-6, p7, 24.07.24
6. ATTR-CM PBiPS6 Sv4F-4, p7, 22.07.24
7. ATTR-CM PBiPS6 Sv4F-7, p7, 26.07.24
8. ATTR-CM PBiPS6 Sv4F-8, p7, 22.07.24
9. ATTR-CM PBiPS6 Sv4F-10, p8, 02.08.24
10. S PBiPS1919-Sv4F-14, p13, 22.07.24
11. Sample NO RT
12. NEGATIVE CONTROL
13. H2O



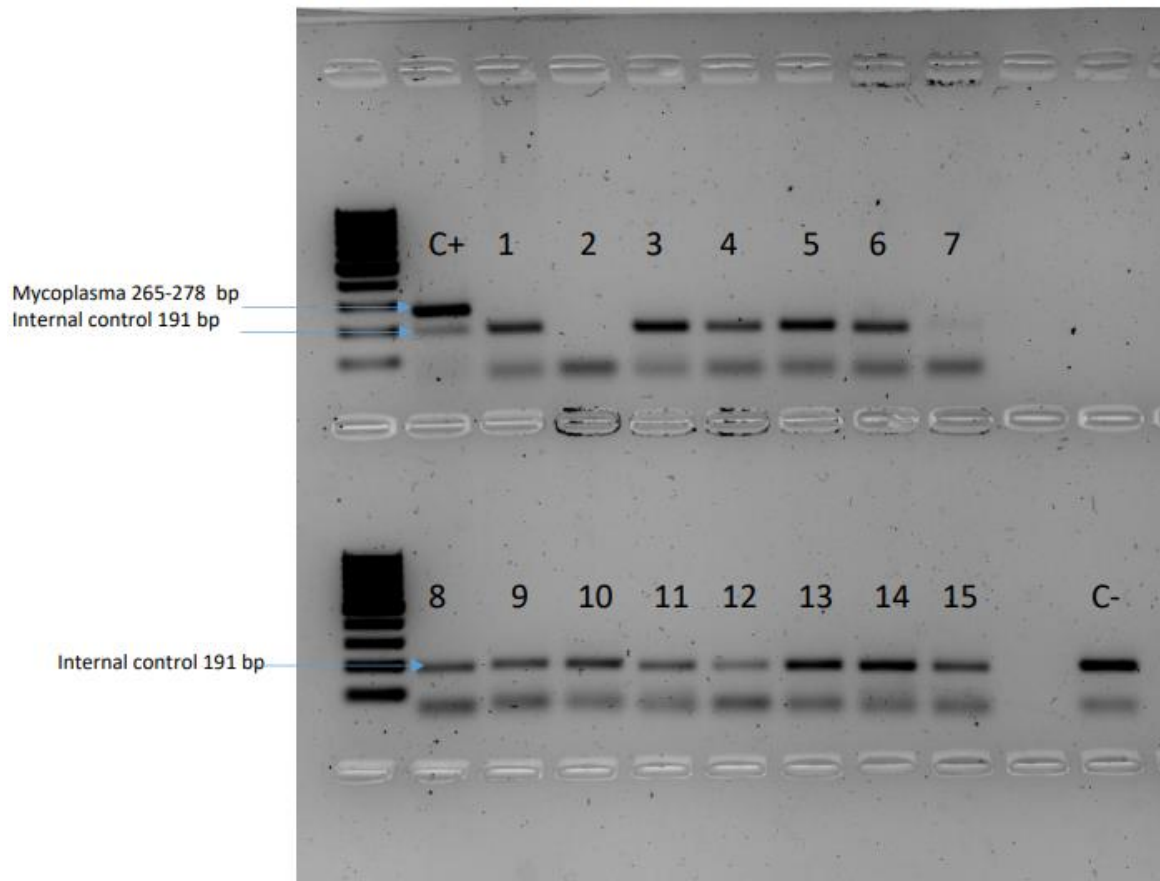
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 10/07/2024



10. BLC04_01: S PBiPS1919_Sv4F_14 p11