



# ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **PPMS PBiPS7-Sv4F-5** 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

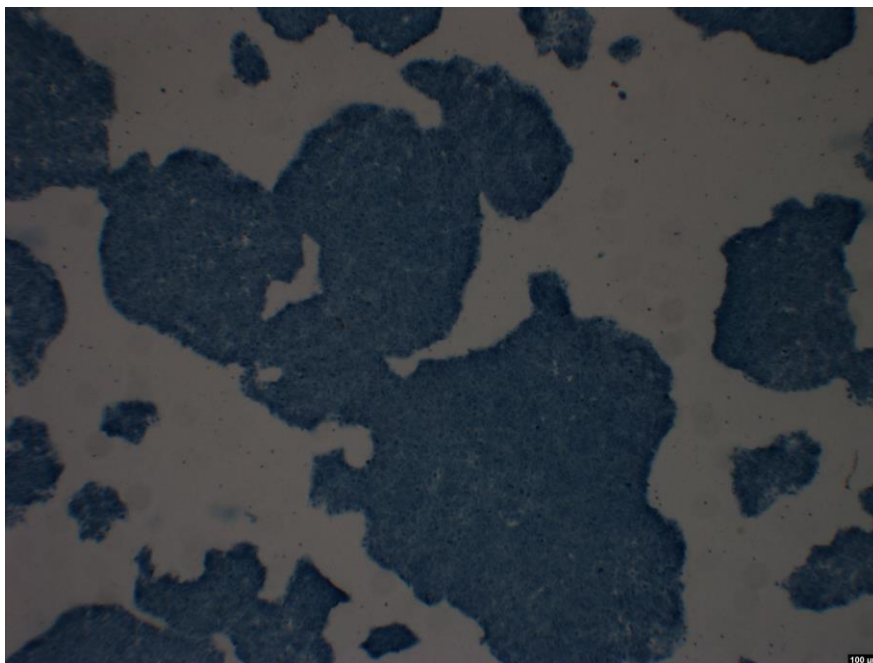
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

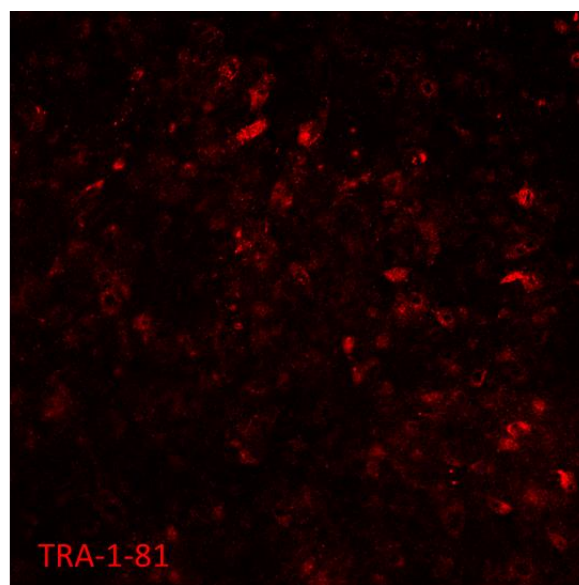
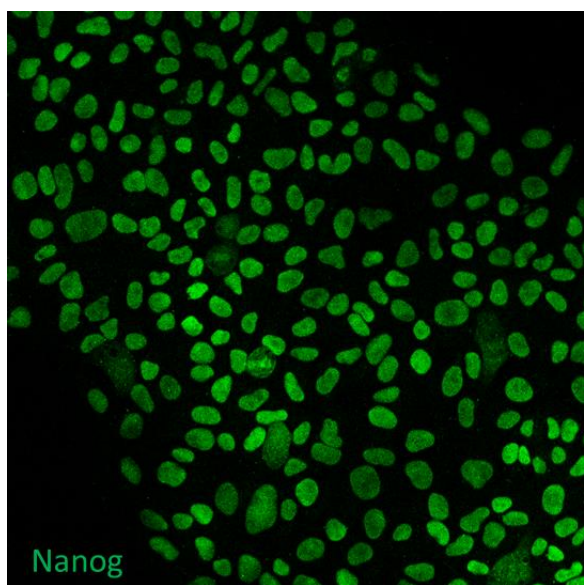


## **Anexo 1**

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

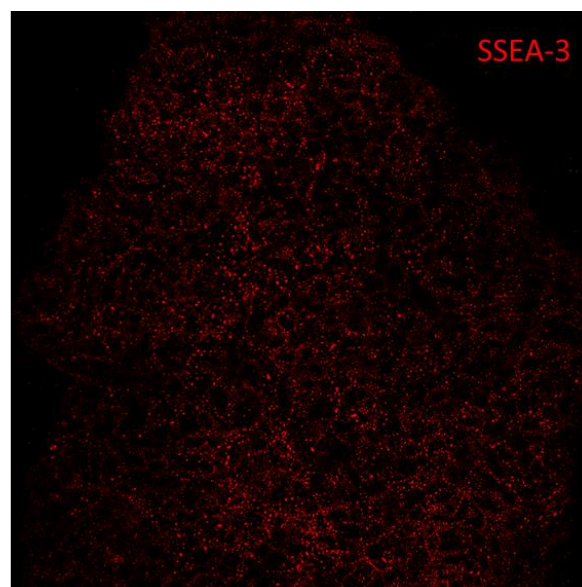
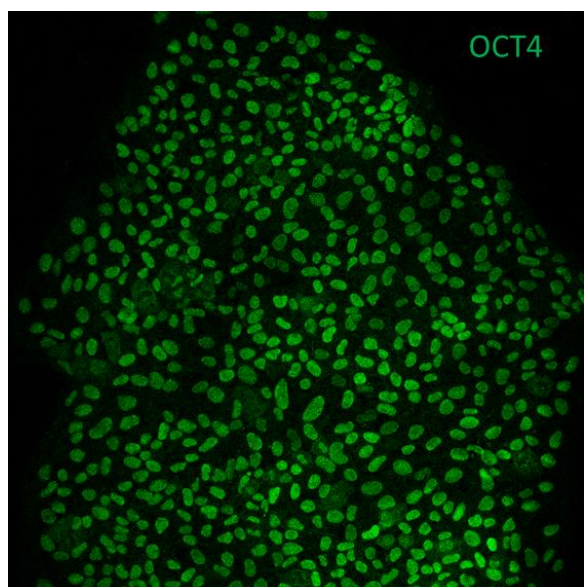


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



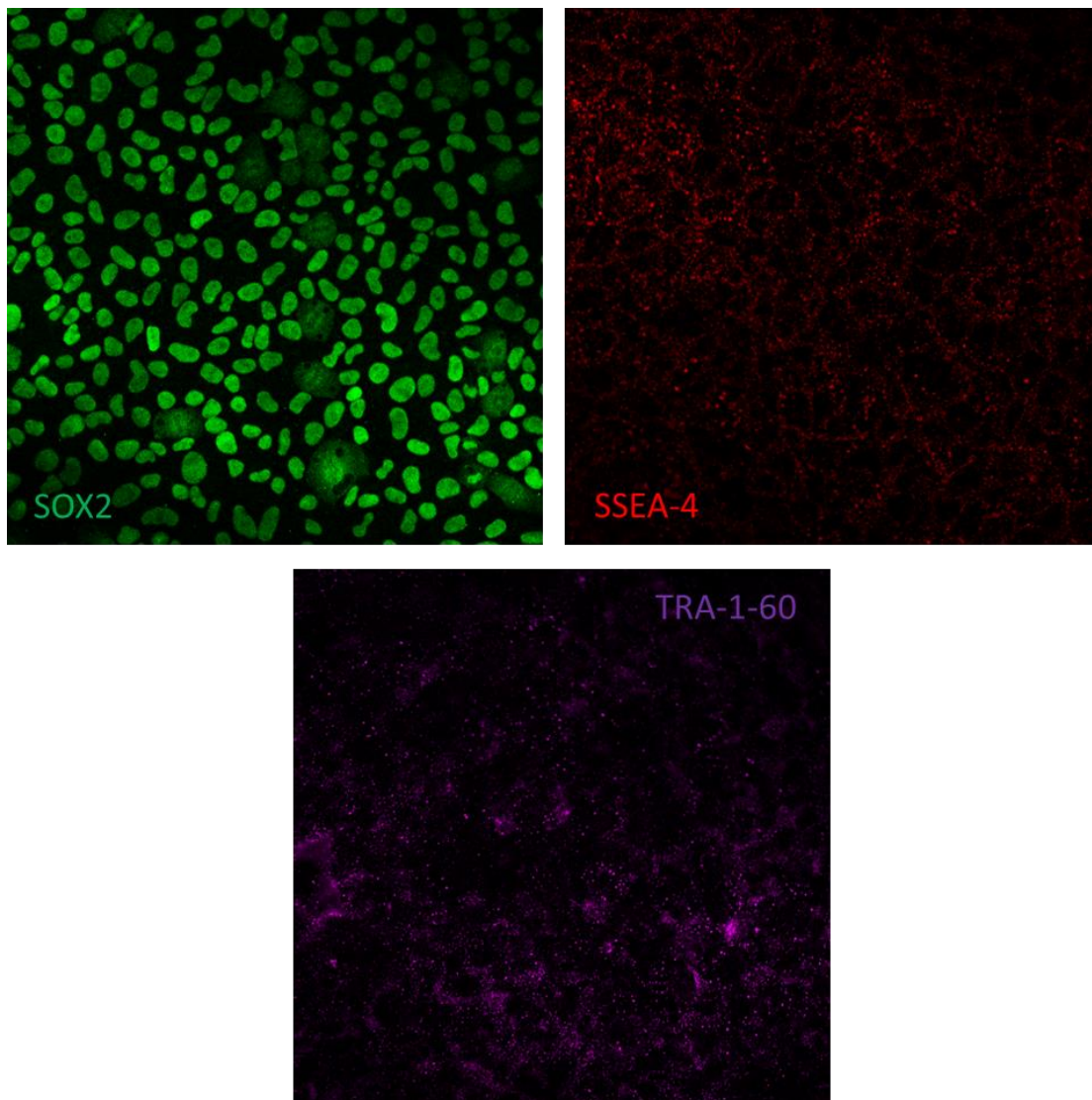
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**



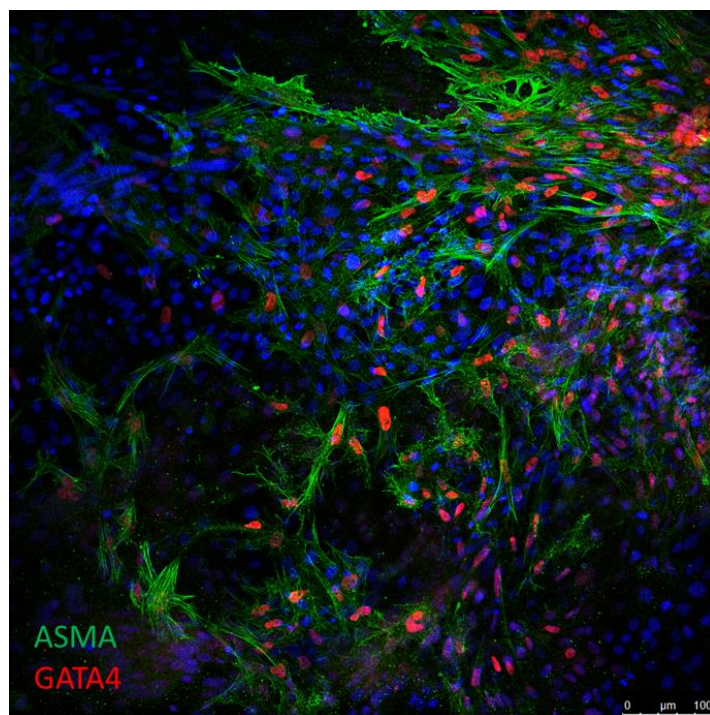
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

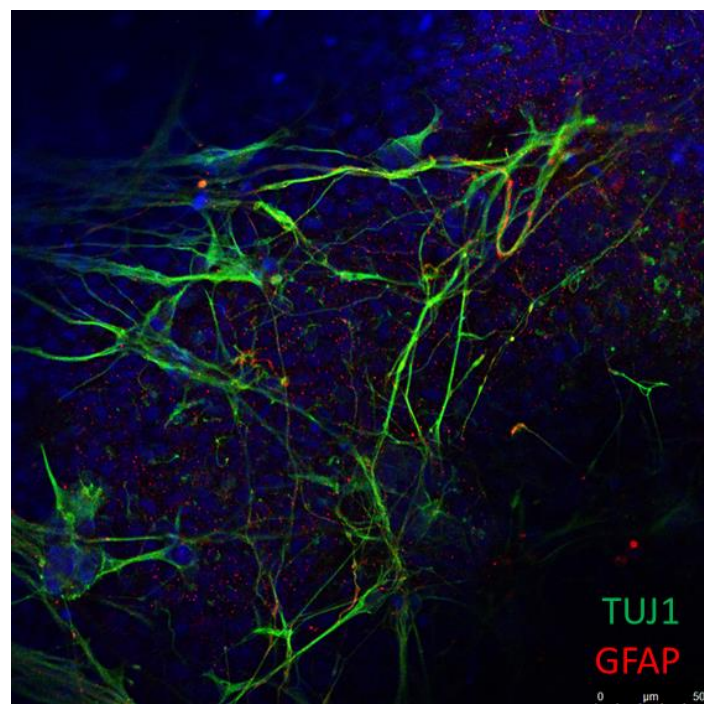


## **Anexo 2**

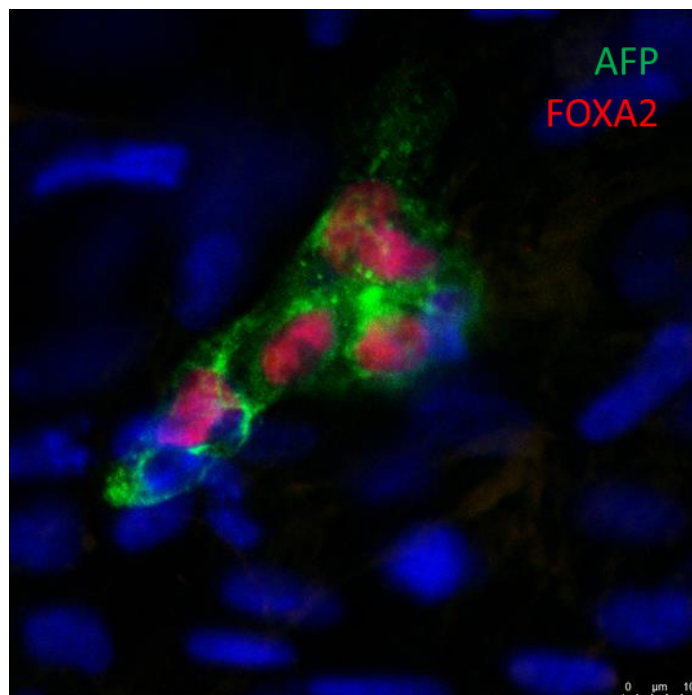
### **Diferenciación *in vitro***



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: 22550869

Department: IDIBELL

Name: PPMS PBiPS7-Sv4F-5 p12

Sample: CM

NHC: CT0501

Date: 9/20/2022



Case: 22550869 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  |
| PPMS PBiPS7-Sv4F-5 p11 | 6; 9.3               | 30; 31 | 12; 13 | 11; 13  | 11; 12 | 13      | 10     | X; Y | 15; 19 | 9; 10 |

Barcelona, a 19 de septiembre 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  |
| WB SAP11417190, 10.03.22 | 6; 9.3               | 30; 31 | 12; 13 | 11; 13  | 11; 12 | 13      | 10     | X; Y | 15; 19 | 9; 10 |

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.



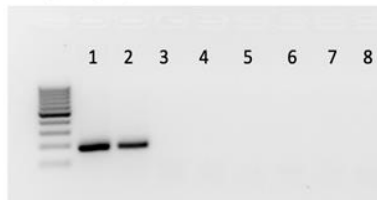
## **Anexo 5**

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

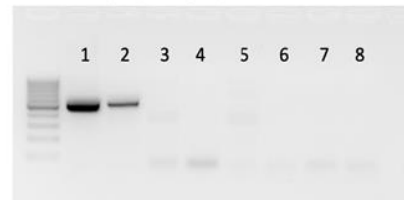
**RT-PCR SENDAI 2.0**  
**28/06/2022**

1. Fb PMM2 Sv-Infected, 05.03.2021
2. PPMS PBiPS7 Sv4F-1, P7, mg, 14.06.22
3. PPMS PBiPS7 Sv4F-3, P7, mg, 20.06.22
4. PPMS PBiPS7 Sv4F-5, P7, mg, 16.06.22
5. PPMS PBiPS7 Sv4F-16, P7, mg, 21.06.22
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



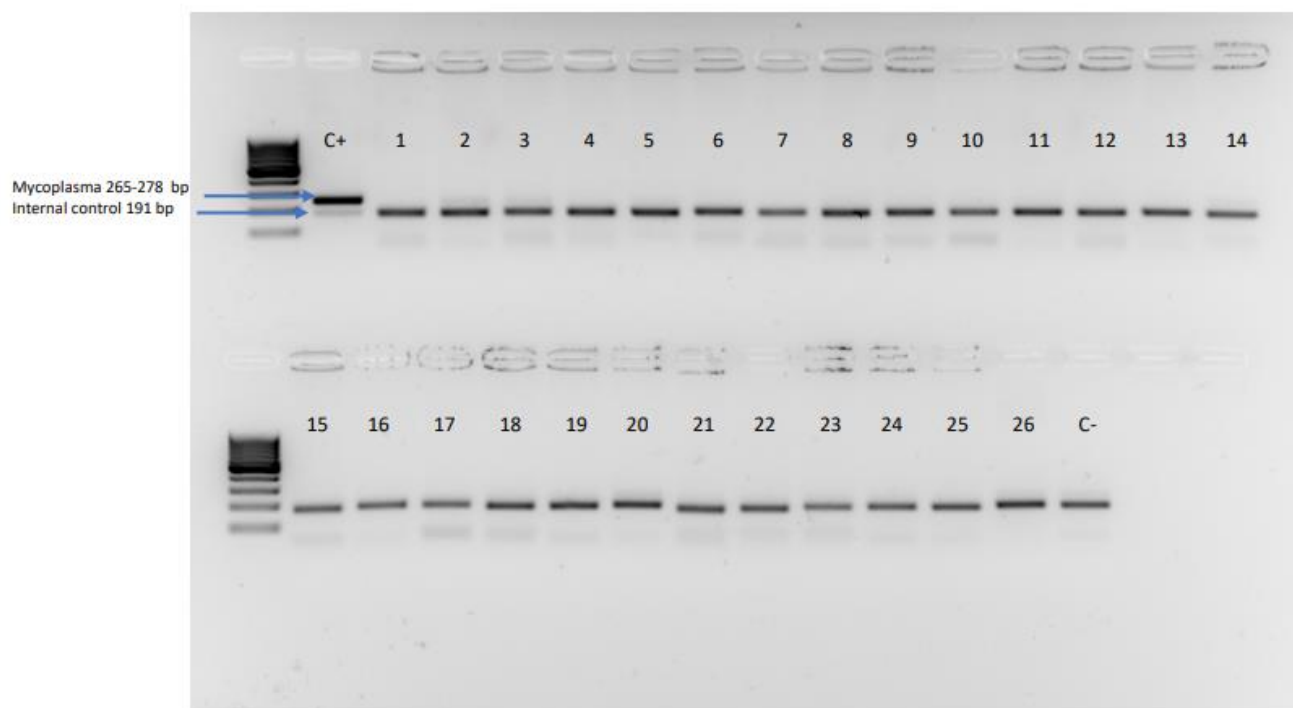
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



## **Anexo 6**

### **Resultado test de micoplasma**

## Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 18/08/2022



- 21. MS10-6 p6
- 22. MS8-4 p13
- 23. MS7-5 p13
- 24. MS10-4 p14