



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **ATTR CM PBiPS3-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

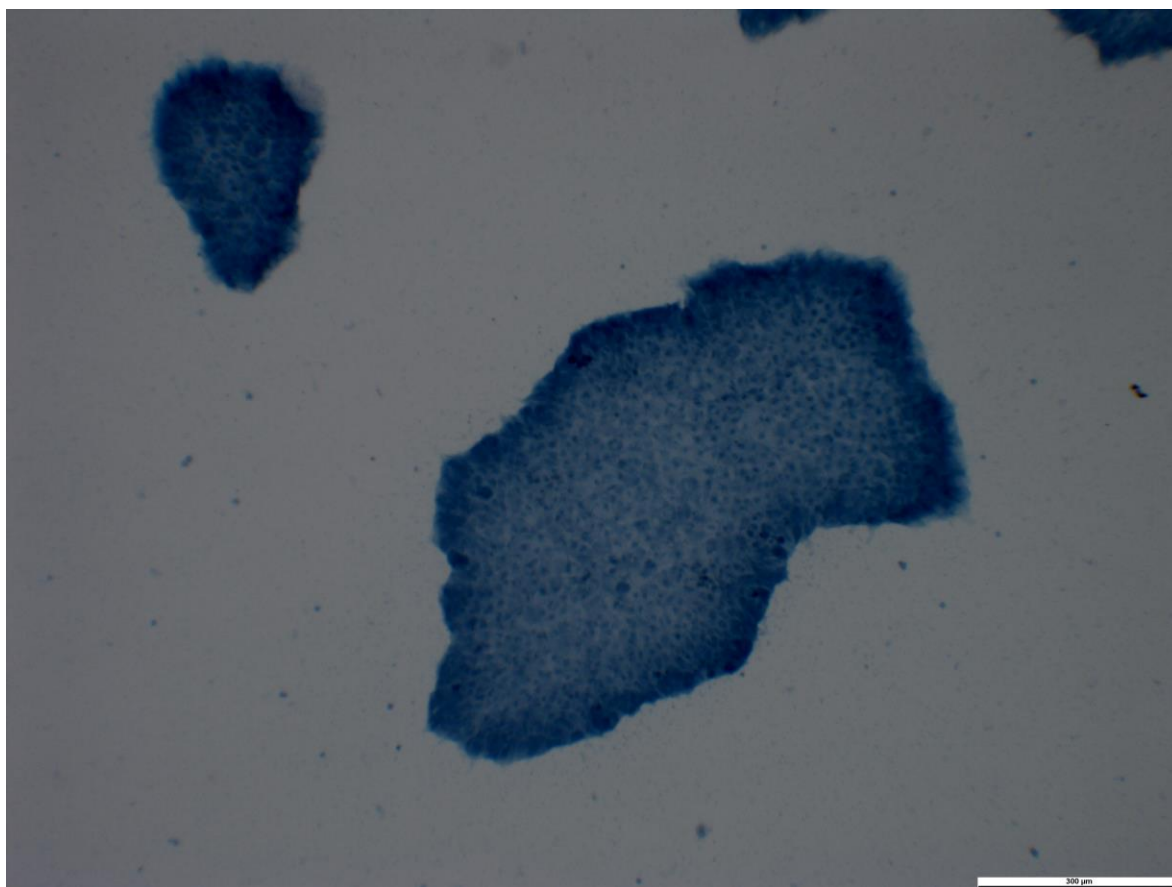
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

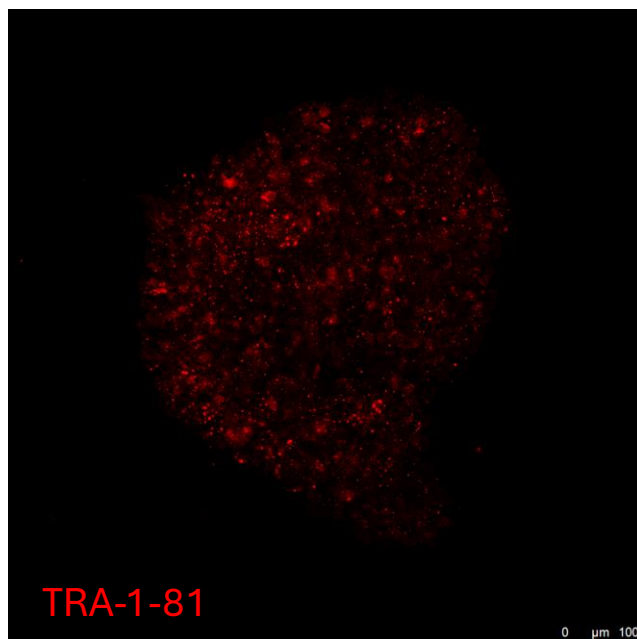
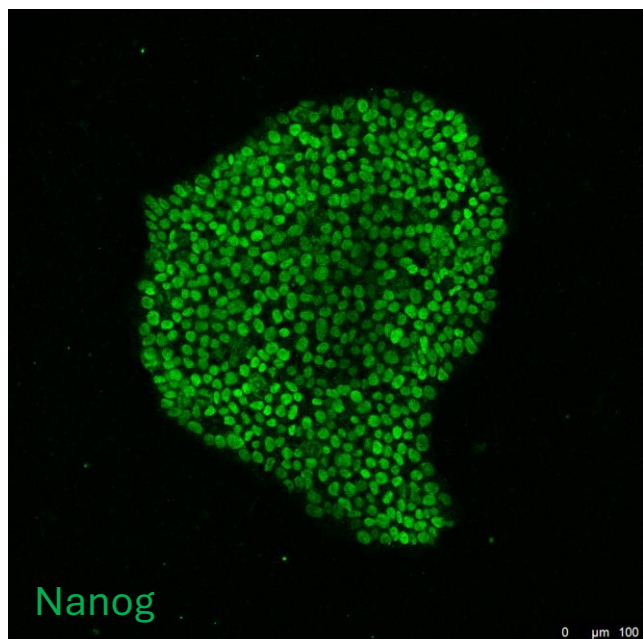


Anexo 1

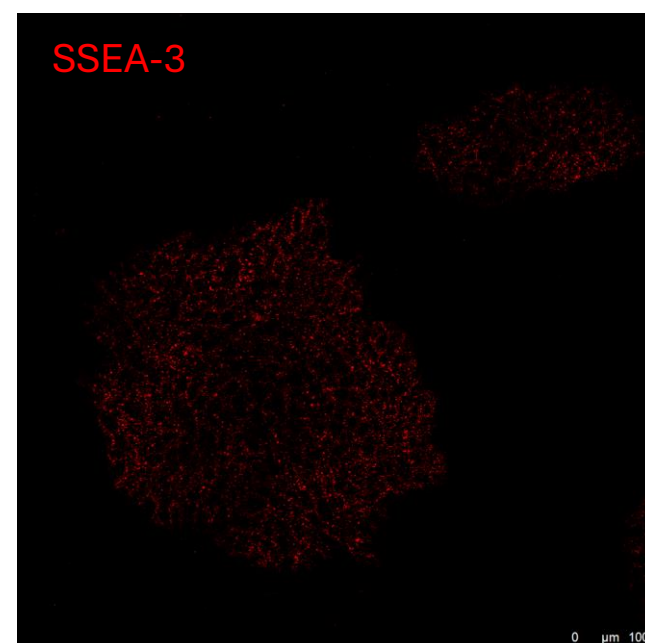
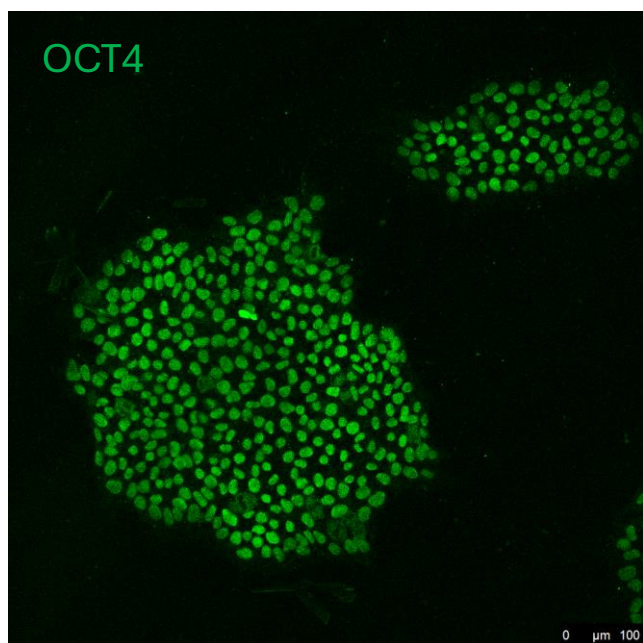
Fenotipo. Marcadores de pluripotencia



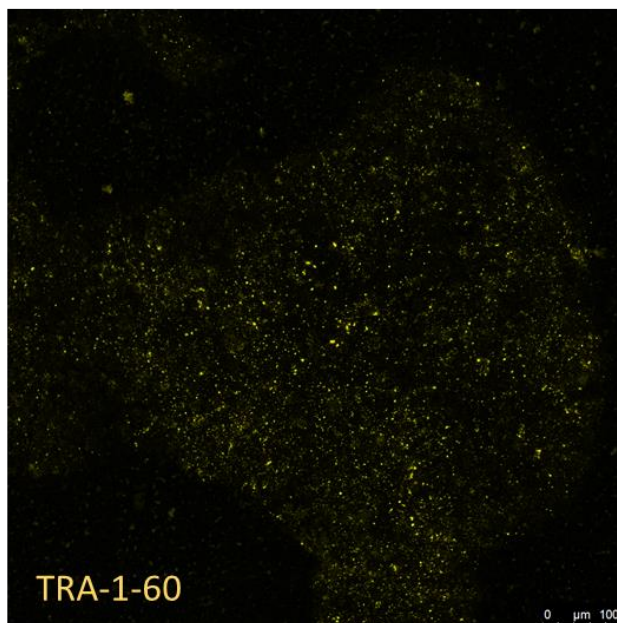
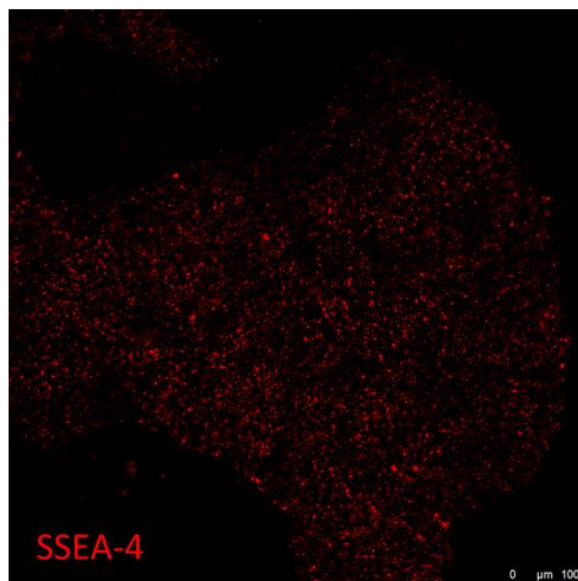
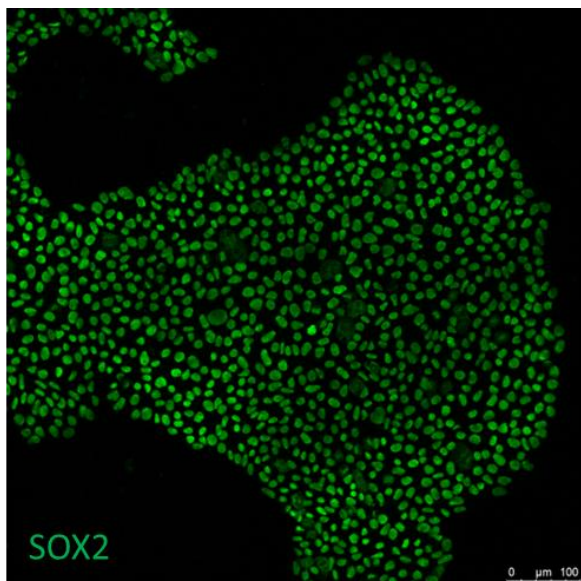
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



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



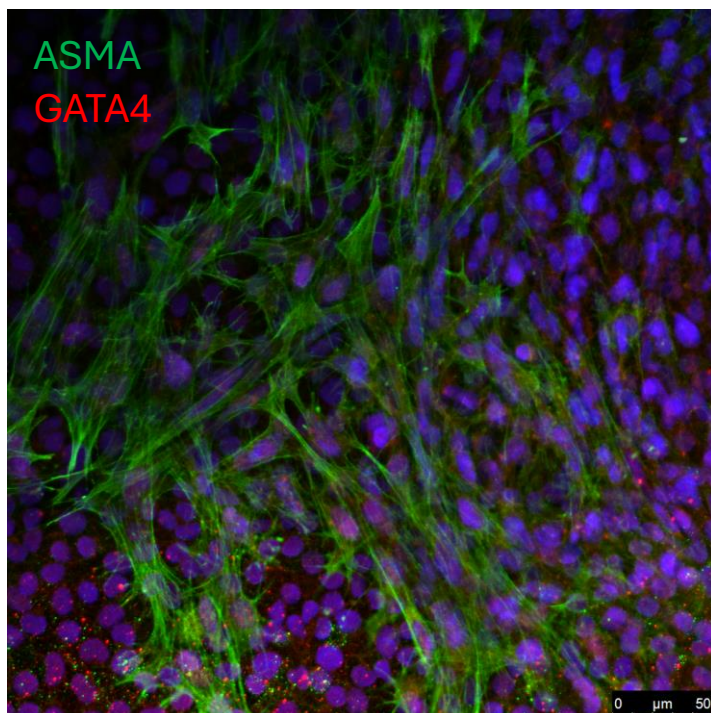
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

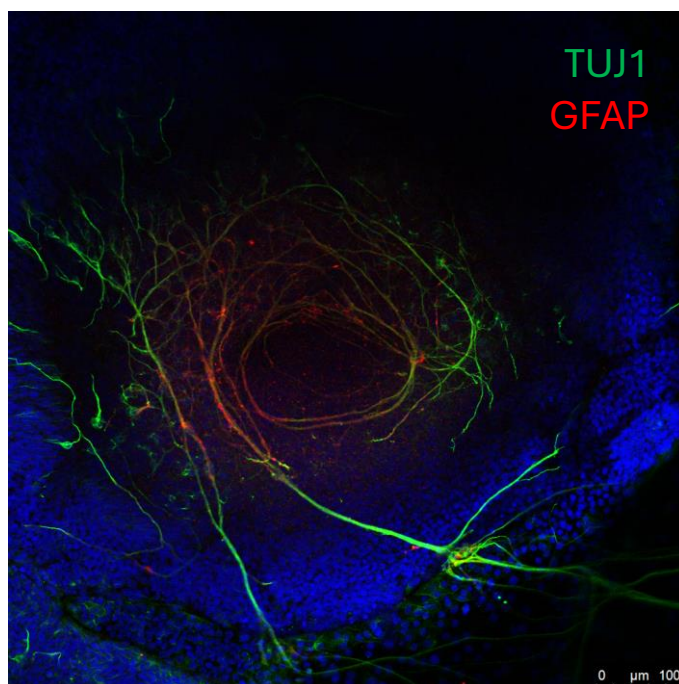


Anexo 2

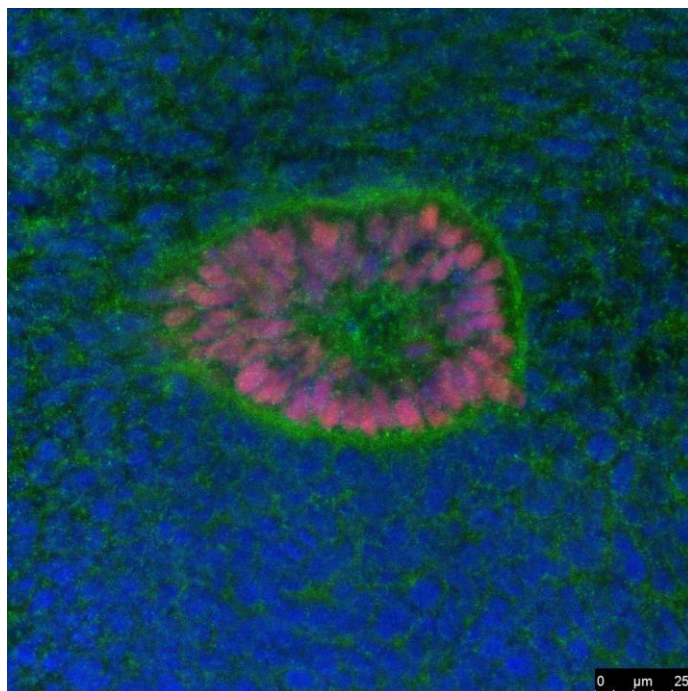
Diferenciación *in vitro*



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: 41560880

Name: ATTR CM-PBiPS3-Sv4F-14 p12

NHC: CT0808

Department: IDIBELL

Date: 6/21/2024

Sample: CM



Case: 41560880 Slide: 2 Cell: 3F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Amber	Tipus de mostra
	ATTR CM PBIP53-SV4F-14 P13	1335127	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 1335127	
D8S1179	8	12	15
D21S11	21q11.2-q21	28	30
D7S820	7q11.21-22	8	10
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	15	16
TH01	11p15.5	7	10
D13S317	13q22-31	12	13
D16S539	16q24-qter	11	13
D2S1338	2q35-37.1	17	17
D19S433	19q12-13.1	14	18
VWA	12p12-pter	15	16
TPOX	2p23-2per	9	10
D18S51	18q21.3	13	15
D5S818	5q21-31	11	13
FGA	4q28	25	25
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	ID Ambar	Tipus de mostra
PBMCS CAR243-C3-1		1335111	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 1335111	
D8S1179	8	12	15
D21S11	21q11.2-q21	28	30
D7S820	7q11.21-22	8	10
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	15	16
TH01	11p15.5	7	10
D13S317	13q22-31	12	13
D16S539	16q24-qter	11	13
D2S1338	2q35-37.1	17	17
D19S433	19q12-13.1	14	18
VWA	12p12-pter	15	16
TPOX	2p23-2per	9	10
D18S51	18q21.3	13	15
D5S818	5q21-31	11	13
FGA	4q28	25	25
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, 09/05/2024



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

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



Anexo 5

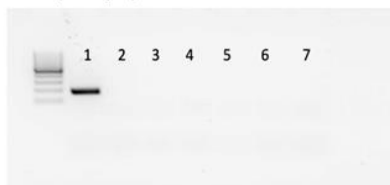
Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

10/05/2024

1. POSITIVE CONTROL
2. ATTR-CM PBiPS3 Sv4F-1, p12, post39°C, 08.05.24
3. ATTR-CM PBiPS3 Sv4F-8, p10, post39°C, 06.05.24
4. ATTR-CM PBiPS3 Sv4F-14, p10, post39°C, 30.04.24
5. Sample NO RT
6. NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE
7. H2O

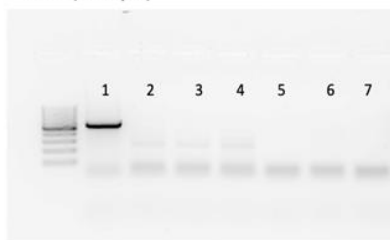
Sev (181 pb)



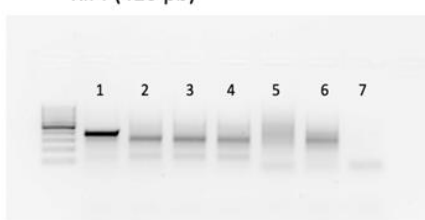
C- Myc (532 pb)



KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



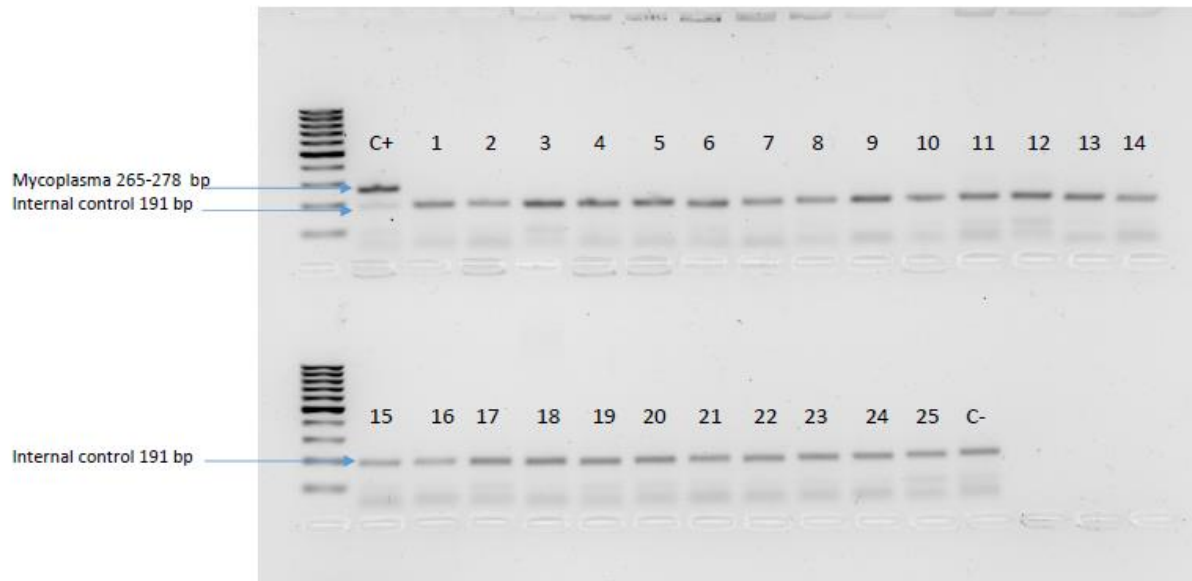
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 29/05/2024



21. BLC22_03: ATTR CM PBiPS3 Sv4F-14 p11