



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **GRIN1 PBiPS CAT001-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

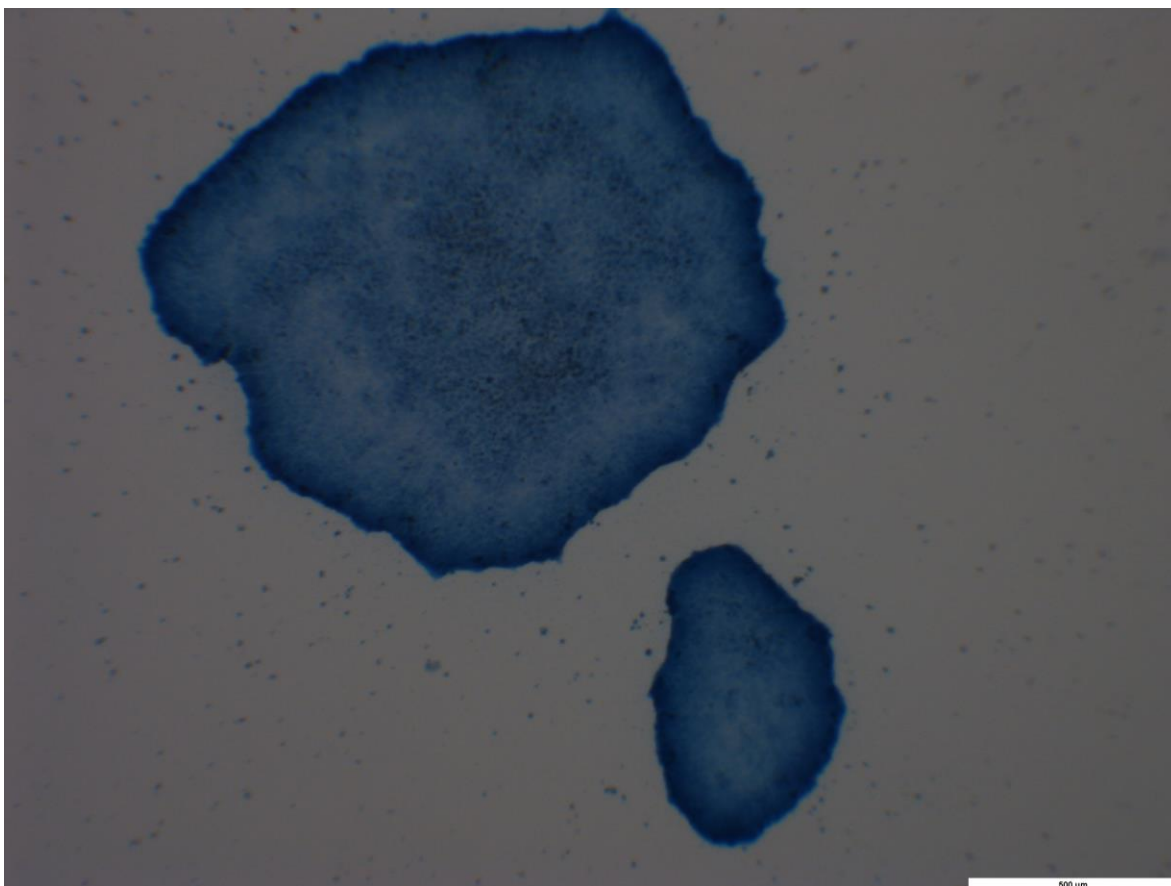
Anexo 6: Comprobación de la presencia de la mutación

Anexo 7: Resultado test de micoplasma

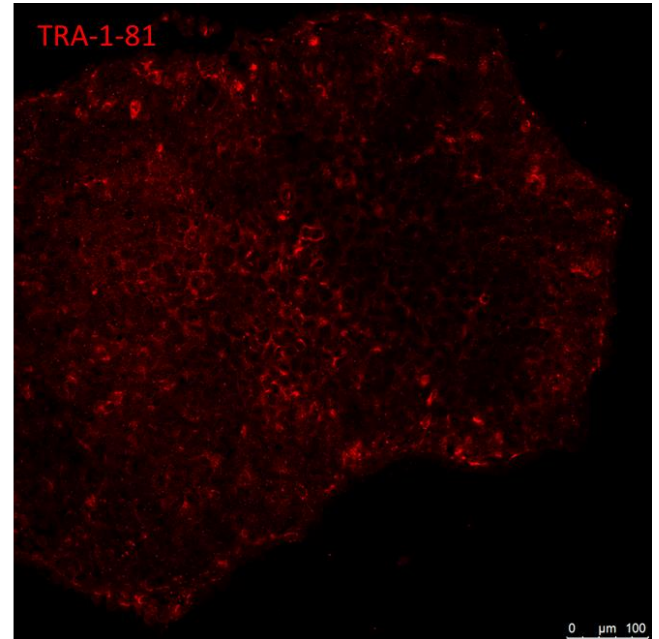
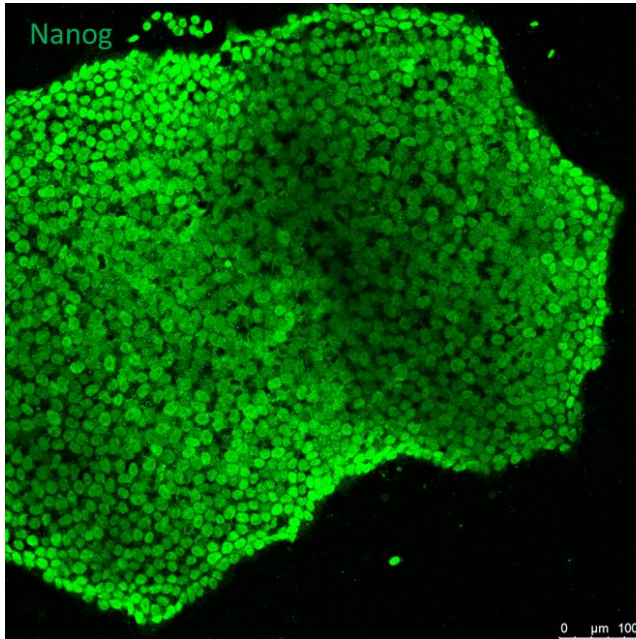


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

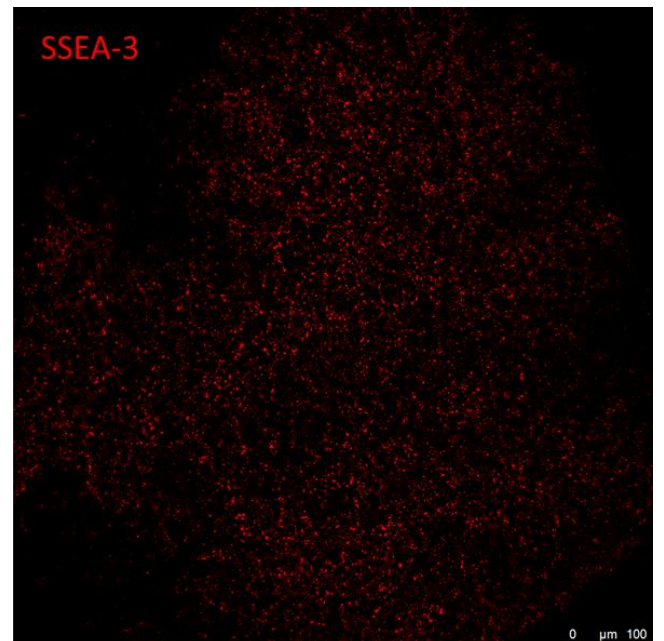
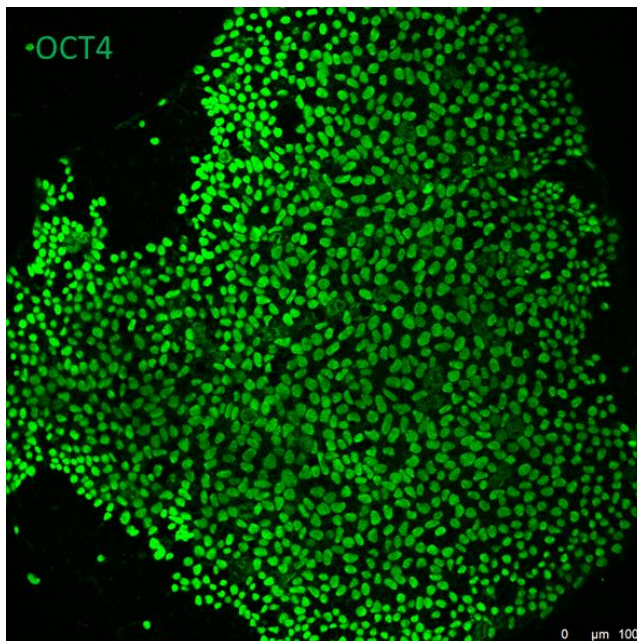


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



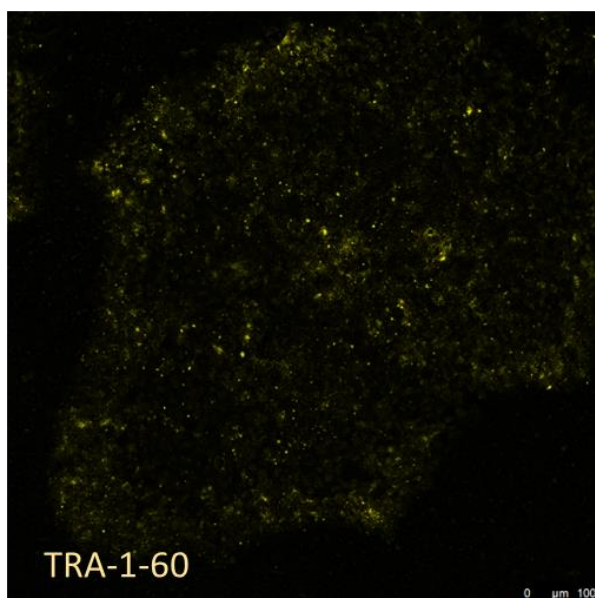
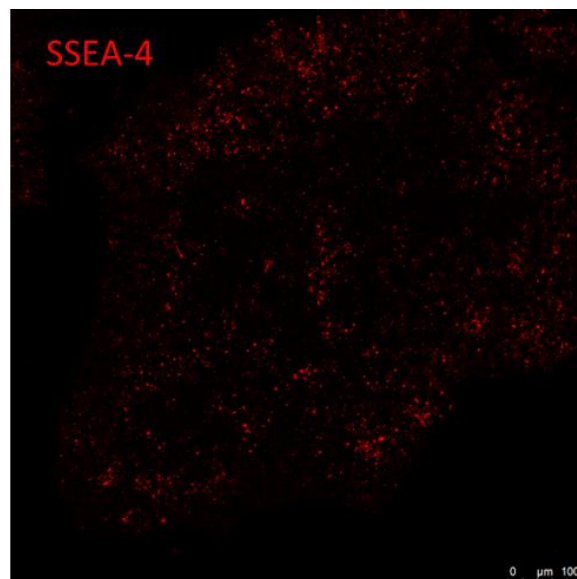
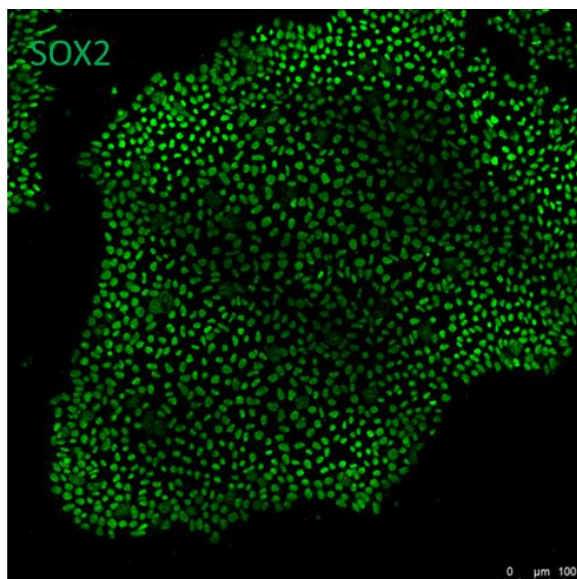
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3

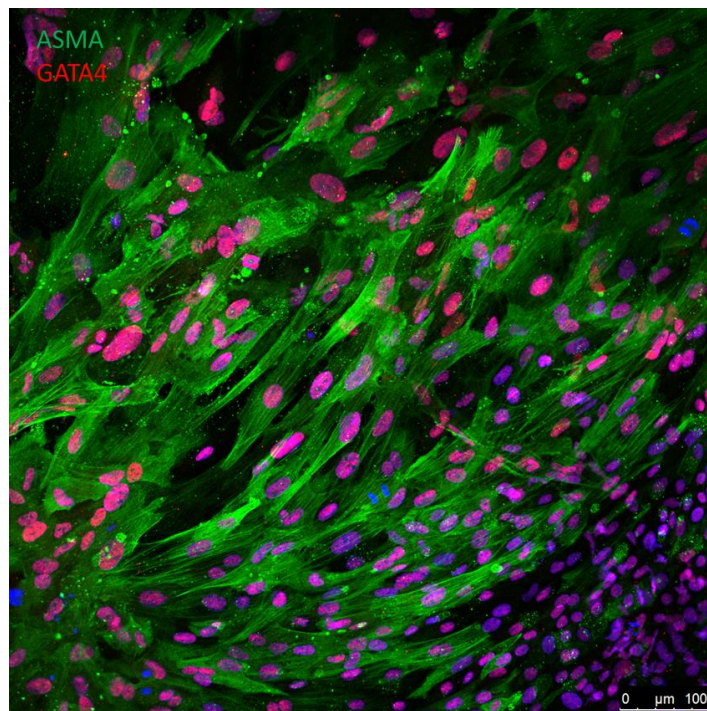


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

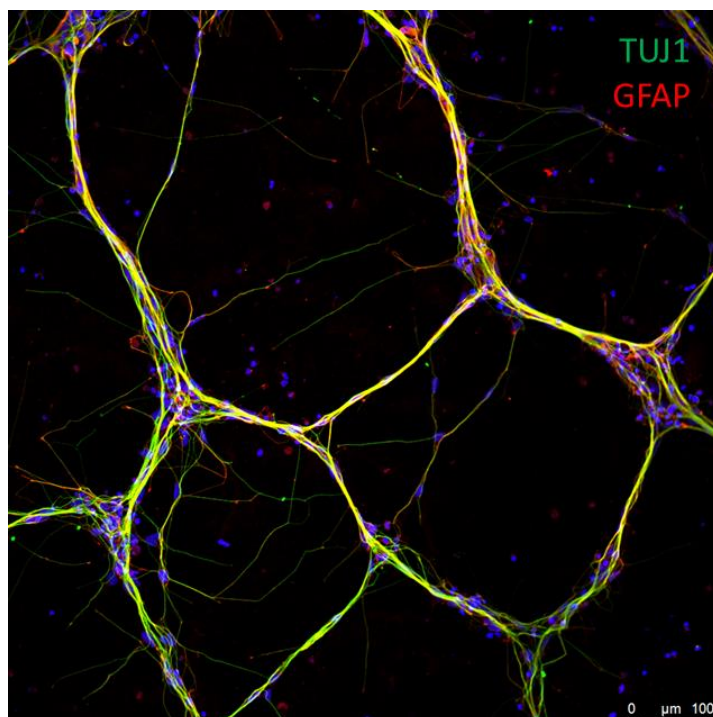


Anexo 2

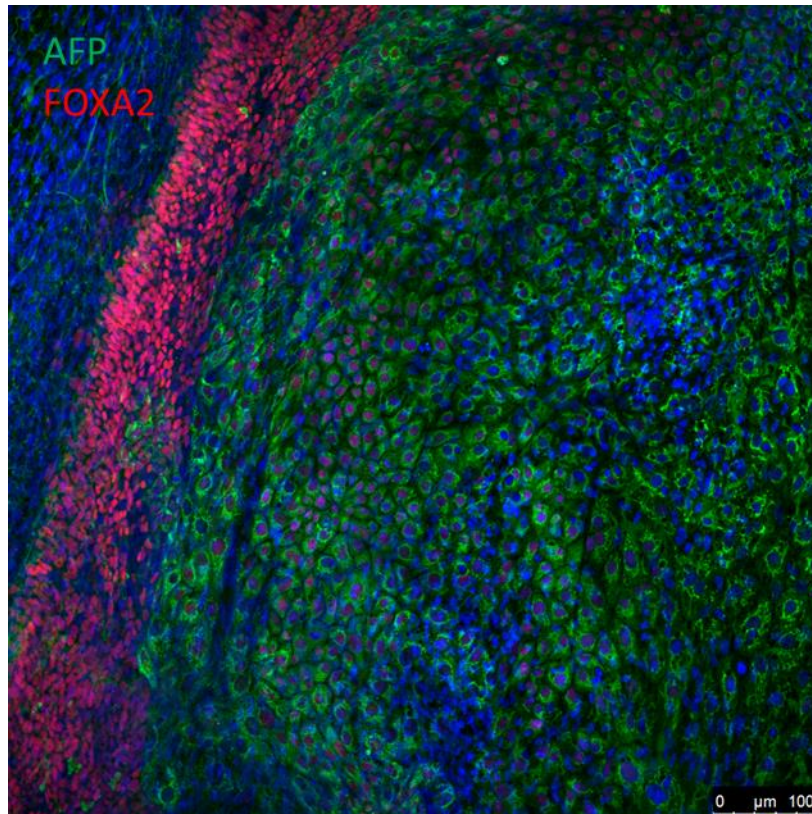
Diferenciación *in vitro*



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

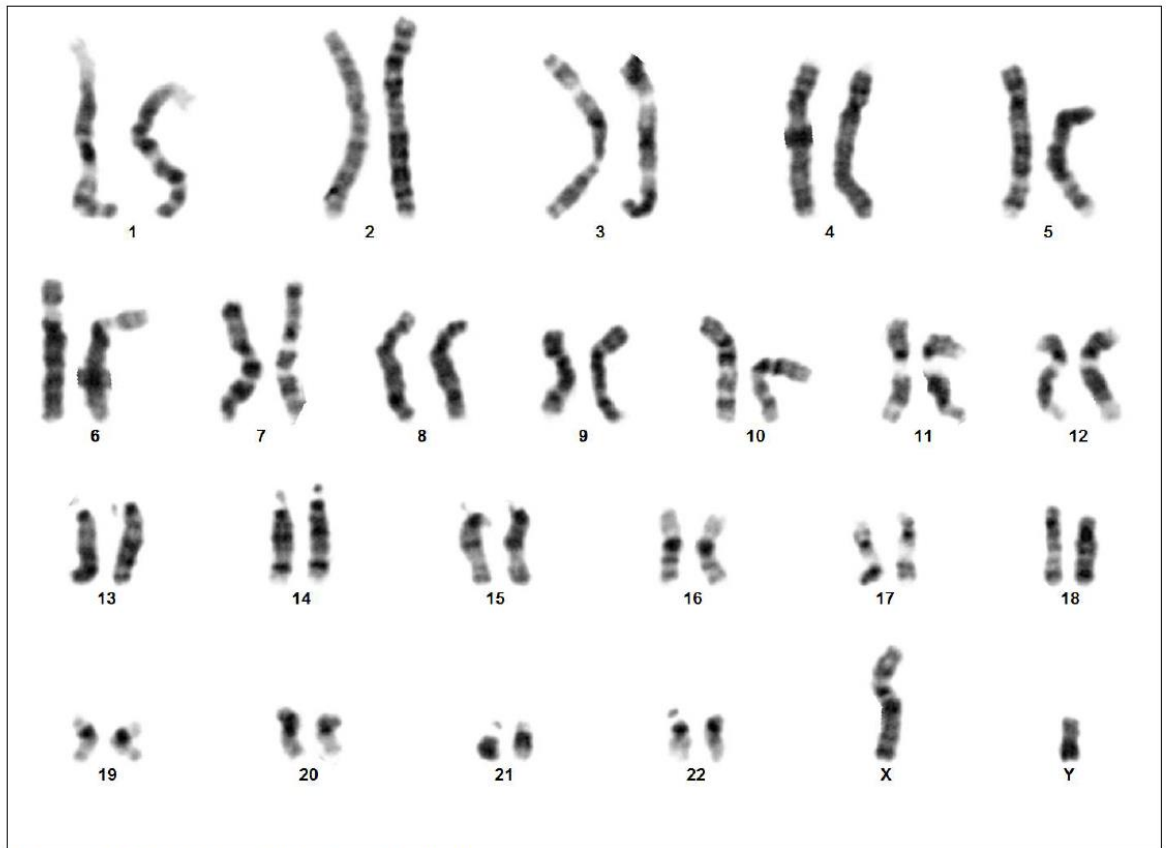
Case name: 51430682

Name: GRIN1 PBiPS CAT001-Sv4F-12 p9

Sample: CM

NHC: CT1076

Date: 6/5/2025



Case: 51430682 Slide: 2 Cell: 2F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació GRIN1 PBIPS CAT001-SV4F-12 P13	ID Ambar 68046317	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 68046317	
D8S1179	8	11	13
D21S11	21q11.2-q21	30	32,2
D7S820	7q11.21-22	10	12
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	16	16
TH01	11p15.5	6	9
D13S317	13q22-31	8	11
D16S539	16q24-qter	11	12
D2S1338	2q35-37.1	17	23
D19S433	19q12-13.1	14	15
VWA	12p12-pter	16	16
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	12	17
D5S818	5q21-31	12	14
FGA	4q28	20	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, 30/07/2025



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació PB CAT001 GRIN1	ID Ambar 1335145	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® 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 1335145	
D8S1179	8	11	13
D21S11	21q11.2-q21	30	32,2
D7S820	7q11.21-22	10	12
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	16	16
TH01	11p15.5	6	9
D13S317	13q22-31	8	11
D16S539	16q24-qter	11	12
D2S1338	2q35-37.1	17	23
D19S433	19q12-13.1	14	15
VWA	12p12-pter	16	16
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	12	17
D5S818	5q21-31	12	14
FGA	4q28	20	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, 27/12/2024



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

Anàlisi de microsatèl·lites en la línia de hiPSC y en las PBMCs de las que procede.



Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

30/04/2025

1. Fb 34101, Sv-infected,
2. GRIN1 PBiPSCAT001-Sv4F-1 p9
3. GRIN1 PBiPSCAT001-Sv4F-5 p8
4. GRIN1 PBiPSCAT001-Sv4F-6 p6
5. GRIN1 PBiPSCAT001-Sv4F-10 p8
6. GRIN1 PBiPSCAT001-Sv4F-12 p7
7. Sample NO RT
8. H2O

Sev (181 pb)



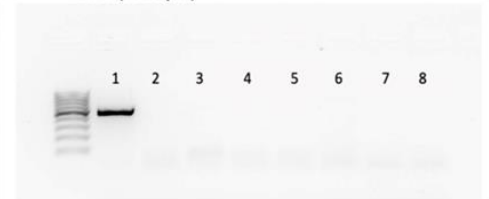
C- Myc (532 pb)



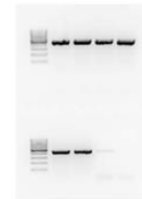
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH

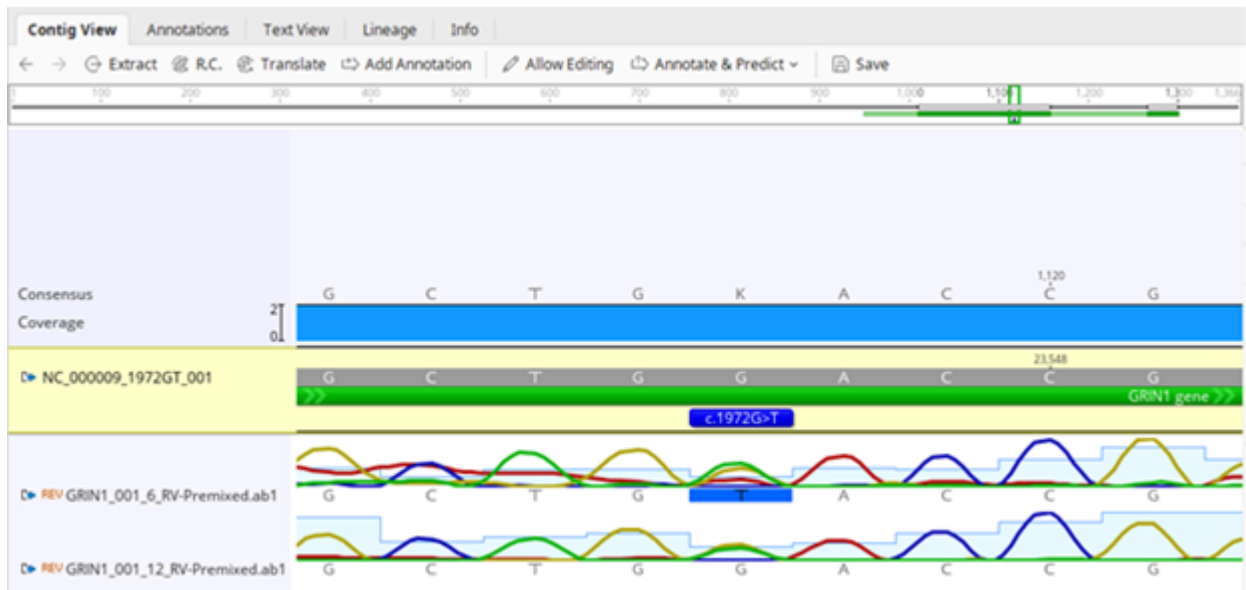


Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Comprobación de la presencia de la mutación



En la figura se observa que las líneas GRIN1 PBiPS CAT001-Sv4F-6 y GRIN1 PBiPS CAT001-Sv4F-12 son portadoras de la mutación de interés en heterocigosis.



Anexo 7

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 16/07/2025



13. GRIN1 PBiPSCAT001-Sv4F-12 p12

Mycoplasma 265-278 bp
Internal control 191 bp