



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **S PBiPS1792-Sv4F-1** 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

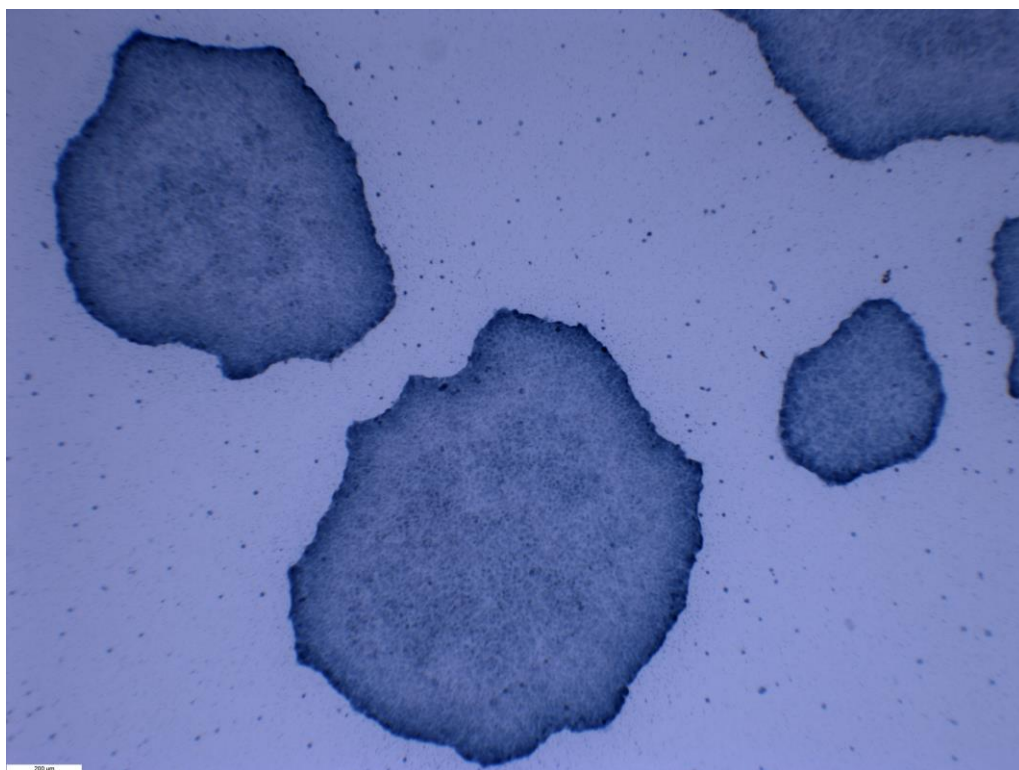
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

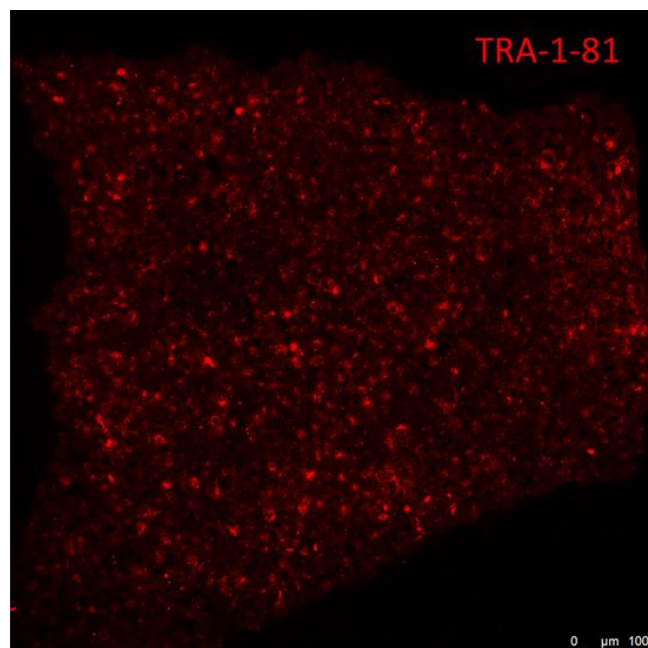
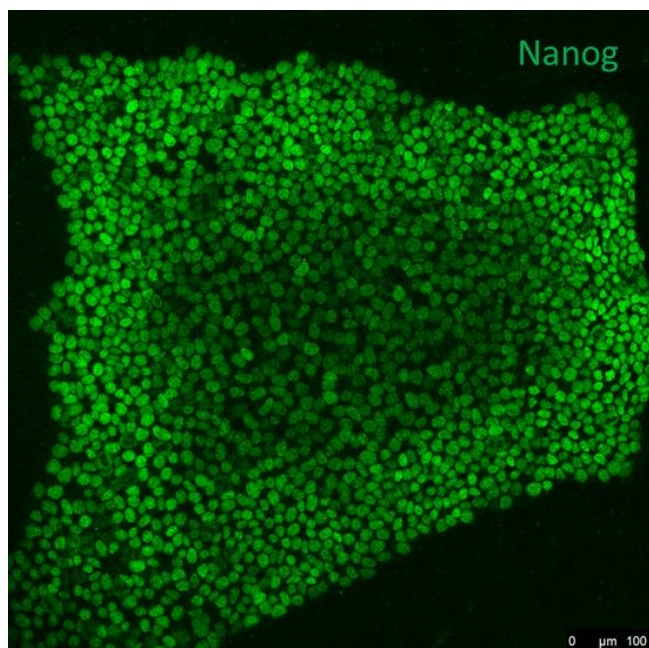


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

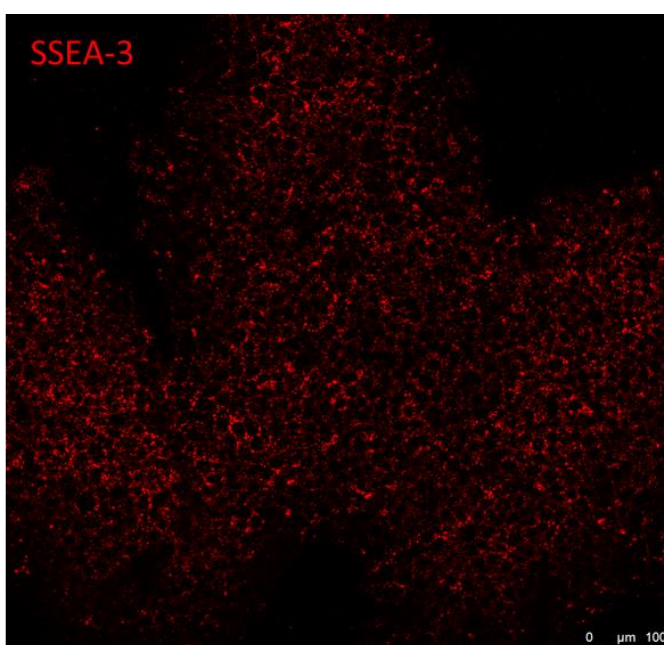
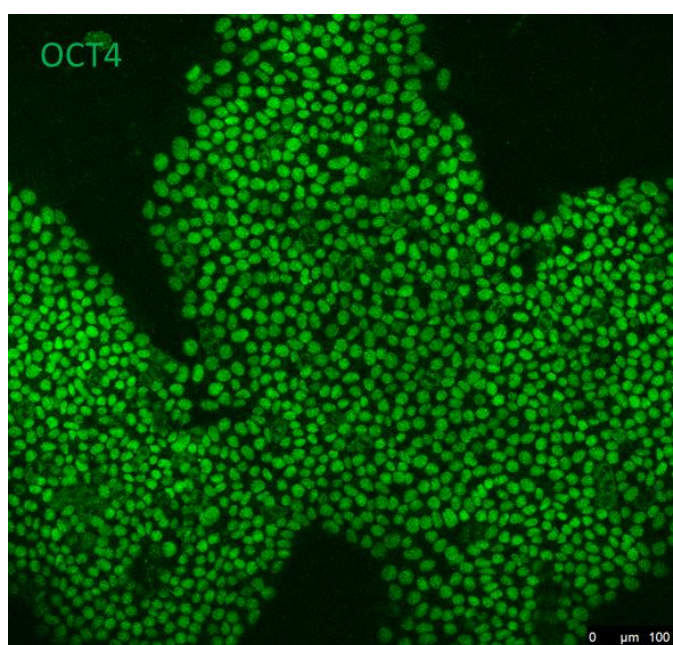


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



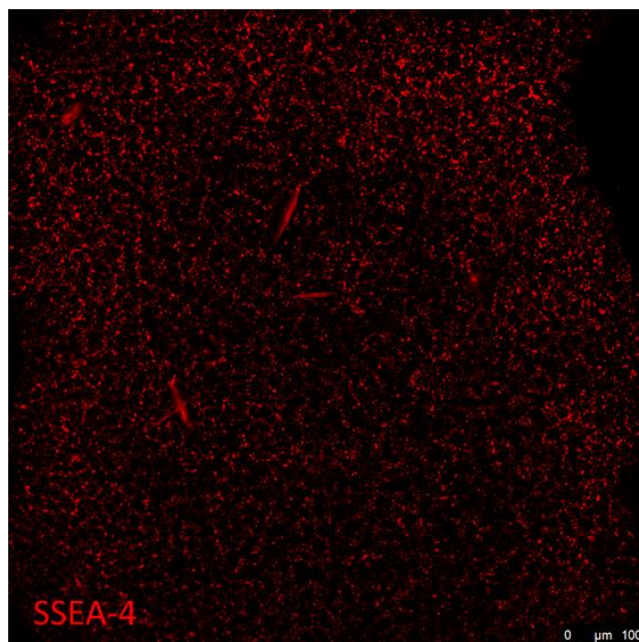
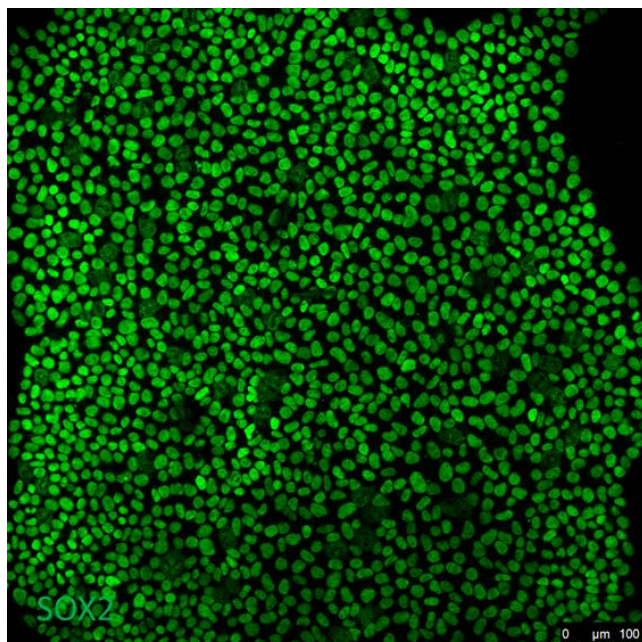
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81

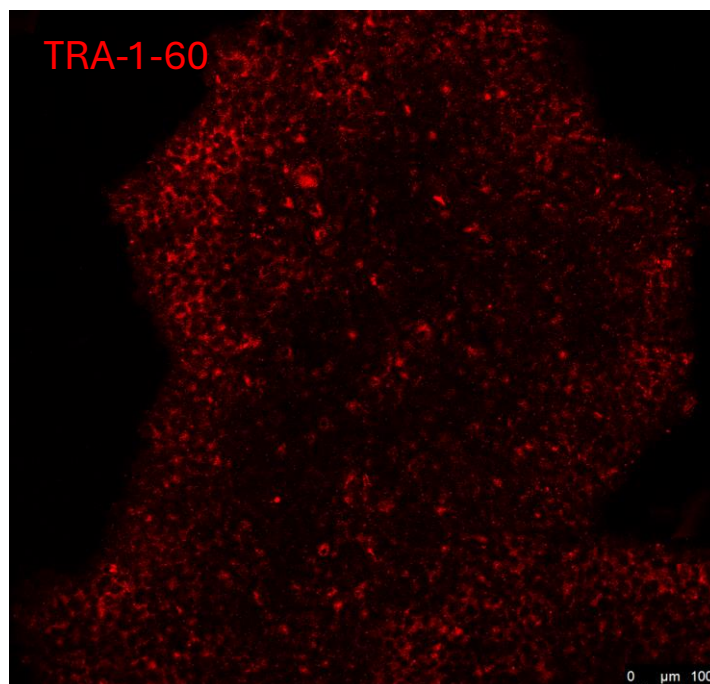


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



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

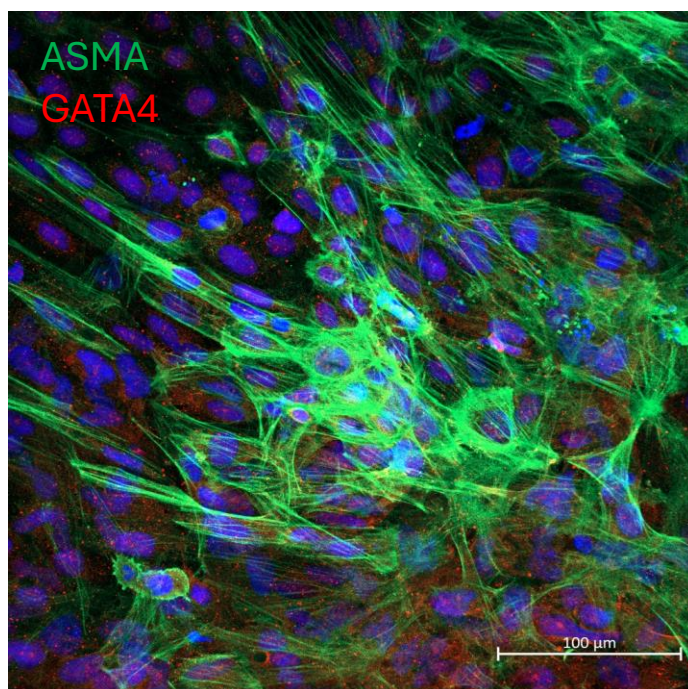


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **TRA1-60**

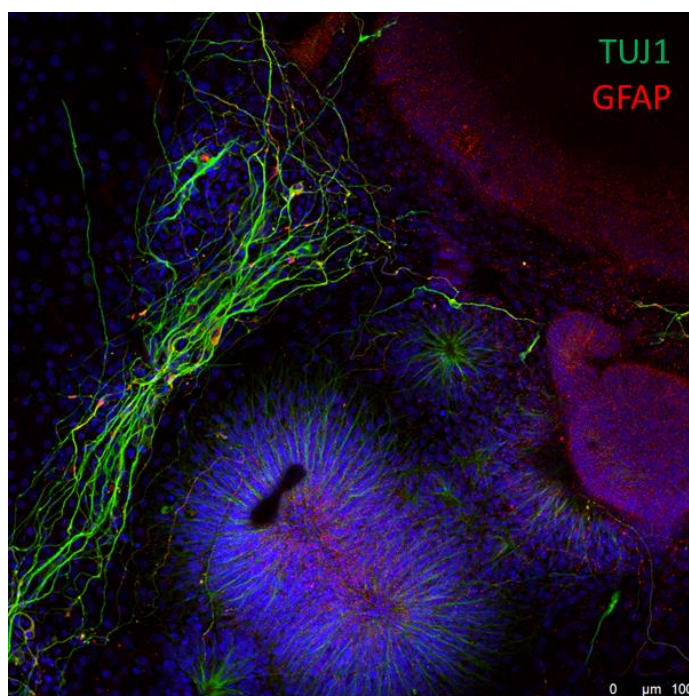


Anexo 2

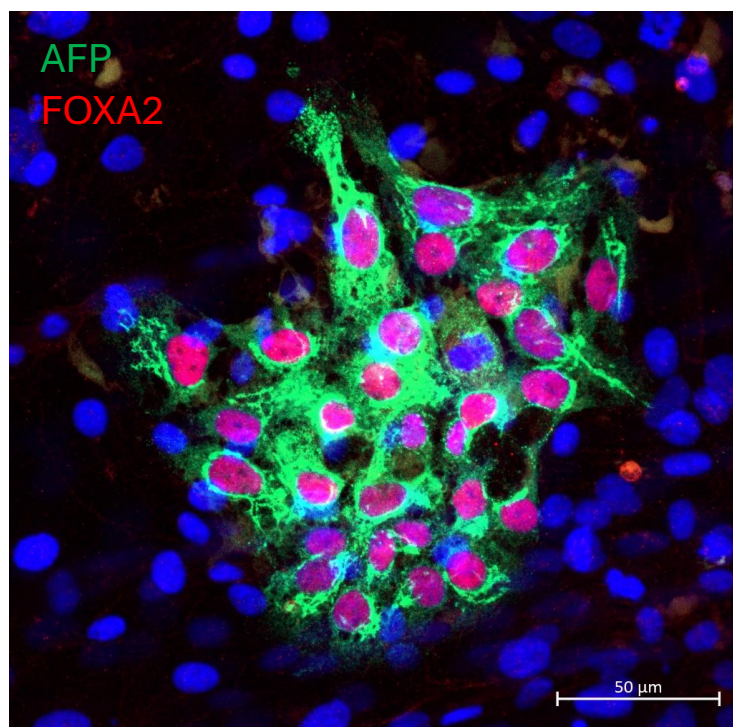
Diferenciación *in vitro*



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: 33560594

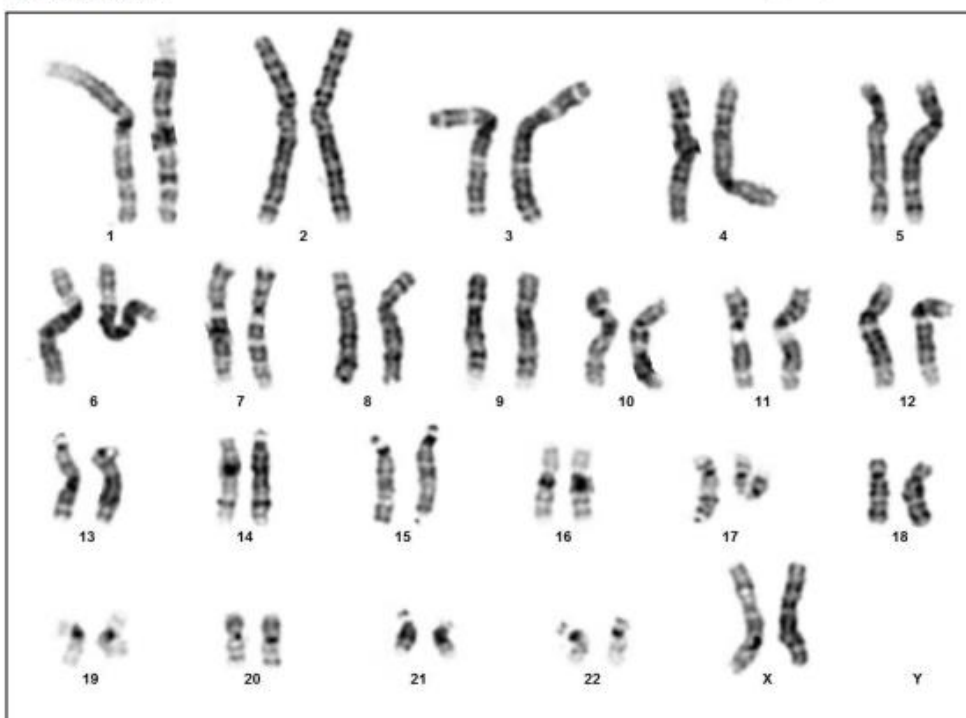
Name: S PBiPS1792-Sv4F-1 p12

NHC: CT0708

Department: IDIBELL

Date: 1/4/2024

Sample: CM



Case: 33560594 Slide: 3 Cell: 6F

Result: 46,XX



Anexo 4

Resultado microsatélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
S PIBIPS1792-SV4F-1 P14		1335101	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 1335101	
D8S1179	8	11	14
D21S11	21q11.2-q21	30	31.2
D7S820	7q11.21-22	10	11
CSF1PO	5q33.3-34	10	11
D3S1358	3p	17	18
TH01	11p15.5	6	9.3
D13S317	13q22-31	11	12
D16S539	16q24-qter	12	13
D2S1338	2q35-37.1	22	23
D19S433	19q12-13.1	14	15
VWA	12p12-pter	14	18
TPOX	2p23-2per	11	12
D18S51	18q21.3	16	22
D5S818	5q21-31	11	12
FGA	4q28	20	25
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, 27/02/2024



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL-LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
	PBM81792-M006,18.07.23	1221747	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 1221747	
D8S1179	8	11	14
D21S11	21q11.2-q21	30	31,2
D7S820	7q11.21-22	10	11
CSF1PO	5q33.3-34	10	11
D3S1358	3p	17	18
TH01	11p15.5	6	9,3
D13S317	13q22-31	11	12
D16S539	16q24-qter	12	13
D2S1338	2q35-37.1	22	23
D19S433	19q12-13.1	14	15
VWA	12p12-pter	14	18
TPOX	2p23-2per	11	12
D18S51	18q21.3	16	22
D5S818	5q21-31	11	12
FGA	4q28	20	25
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, 26/07/2023



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

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

Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

04/12/23

1. POSITIVE CONTROL
2. S PBiPS1792-Sv4F-1 , p10
3. S PBiPS1792-Sv4F-5 , p10
4. S PBiPS1792-Sv4F-12, p10
5. S PBiPS1792-Sv4F-13, p10
6. Sample NO RT
7. NEGATIVE CONTROL
8. H2O

Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



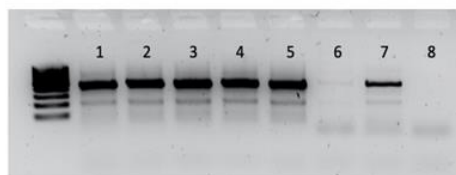
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



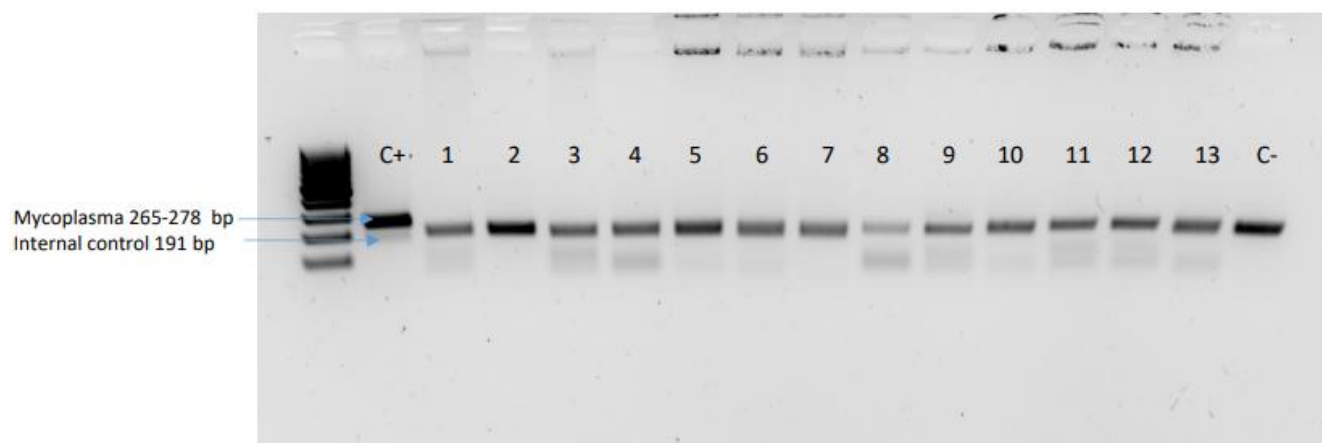
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 7

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 17/01/2024



5. S1792 #1: S_PBiPS1792_Sv4F-1 p10