



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **S PBiPS1199-Sv4F-2** 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

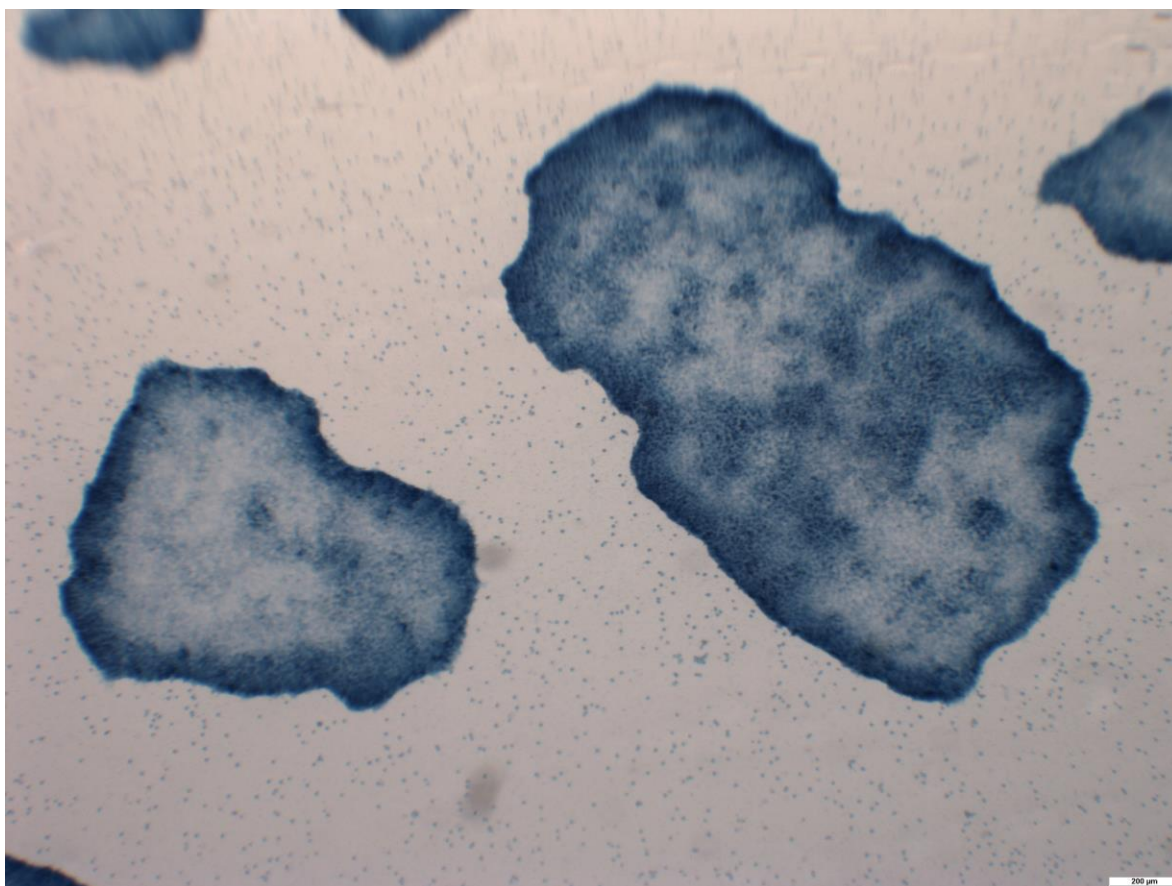
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

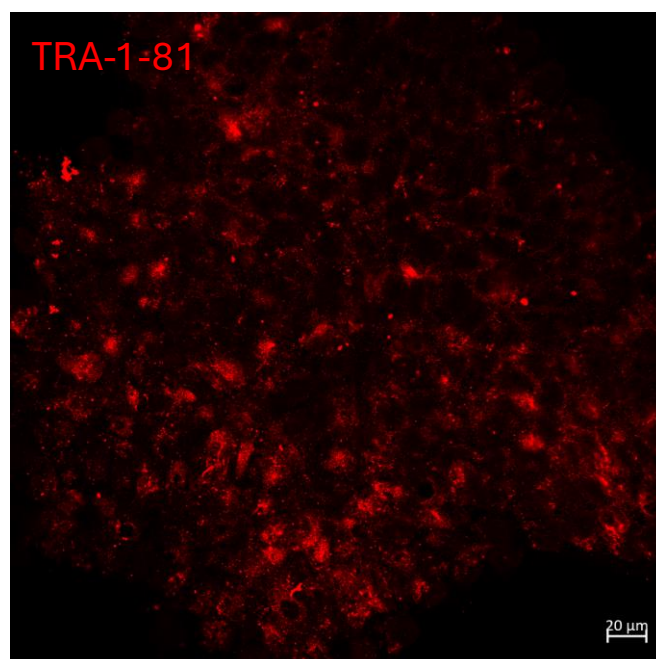
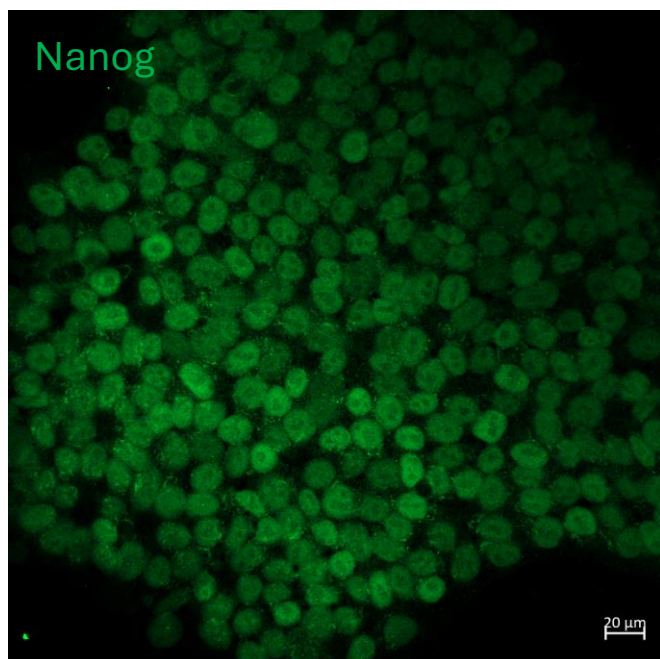


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

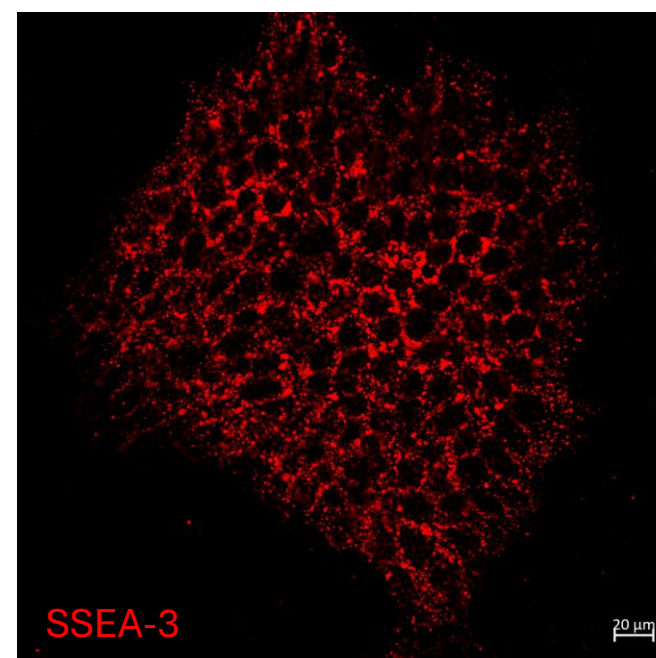
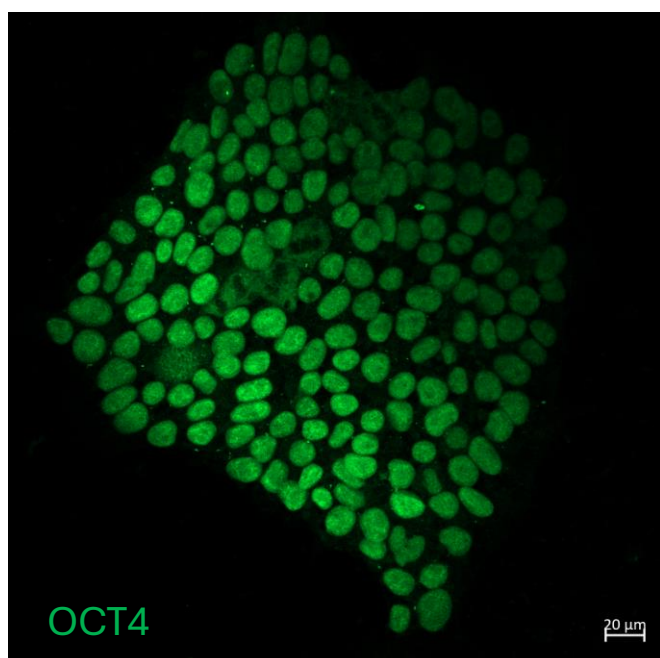


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



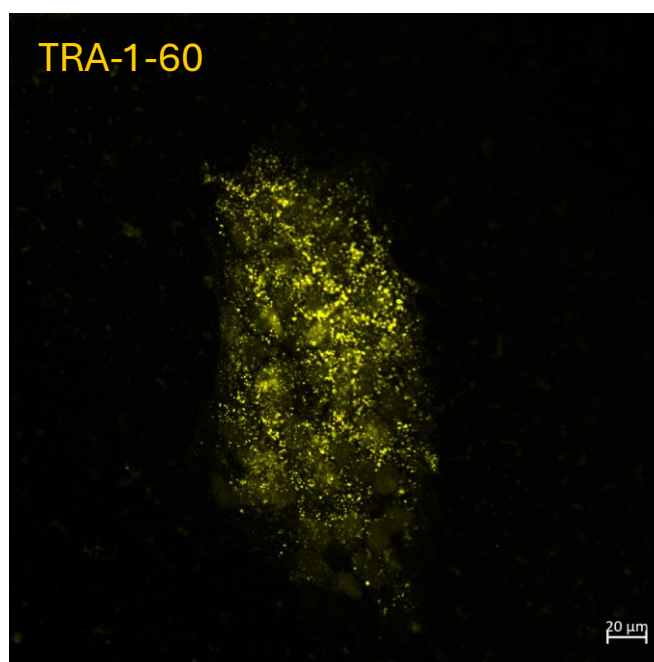
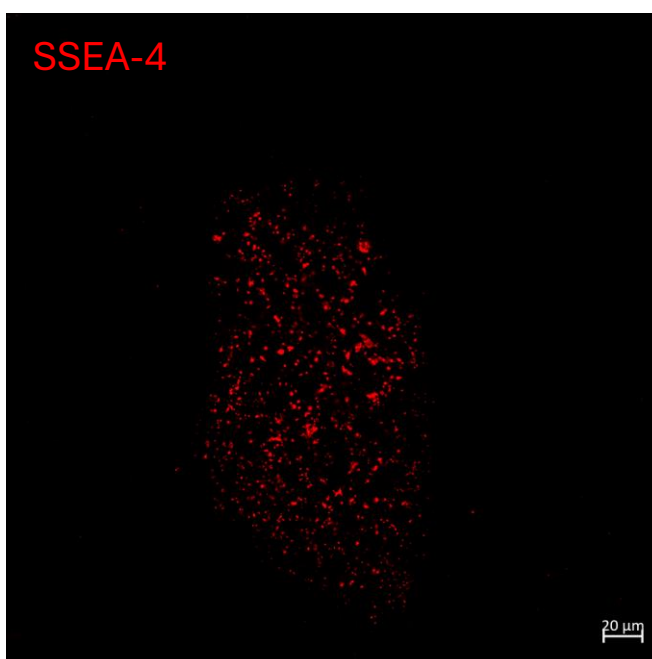
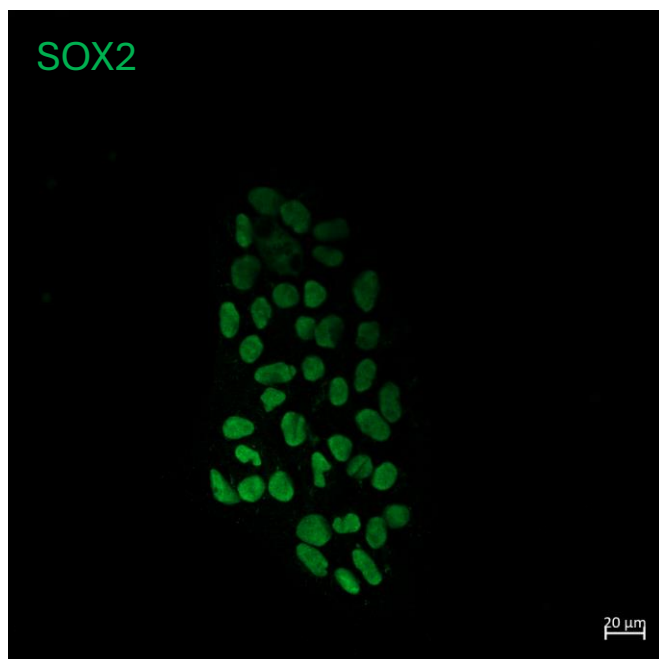
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



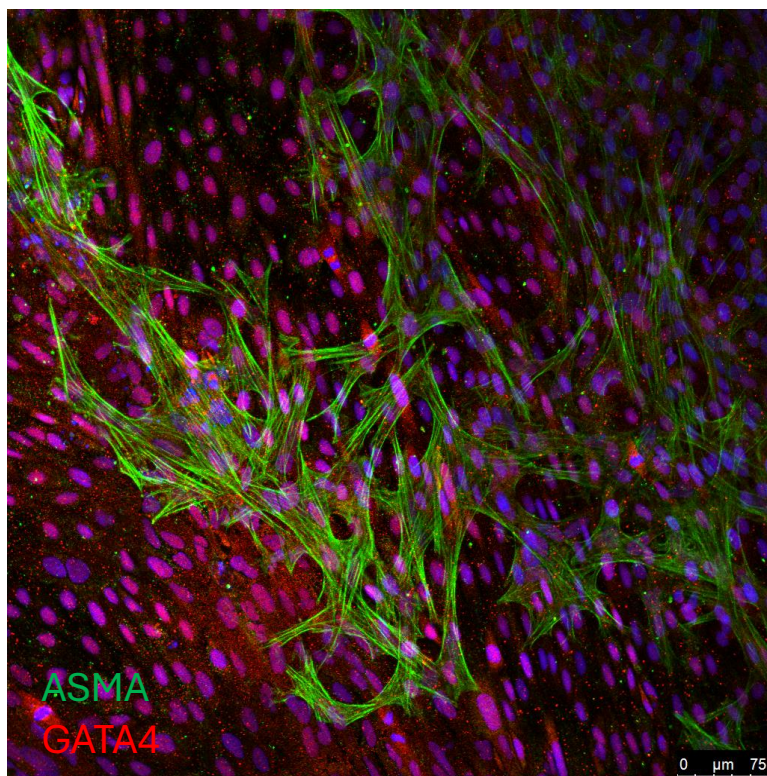
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

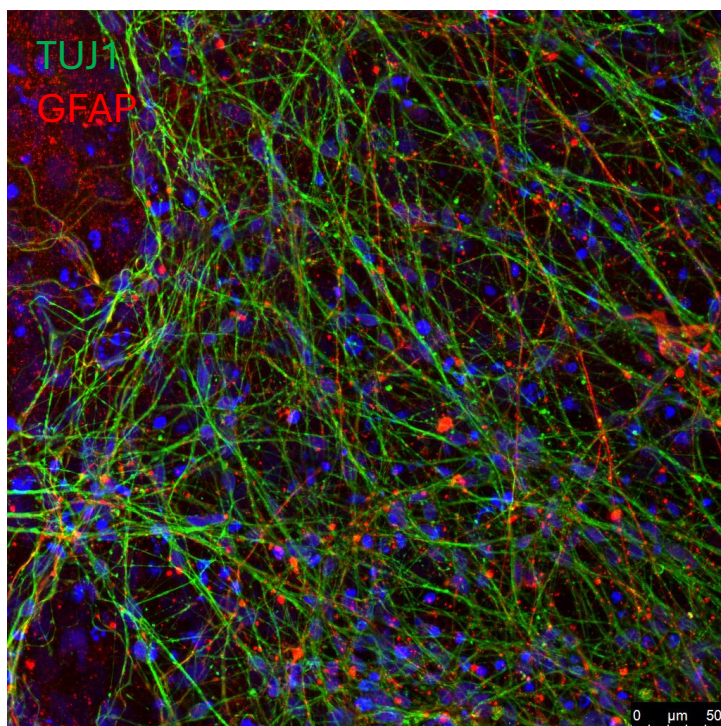


Anexo 2

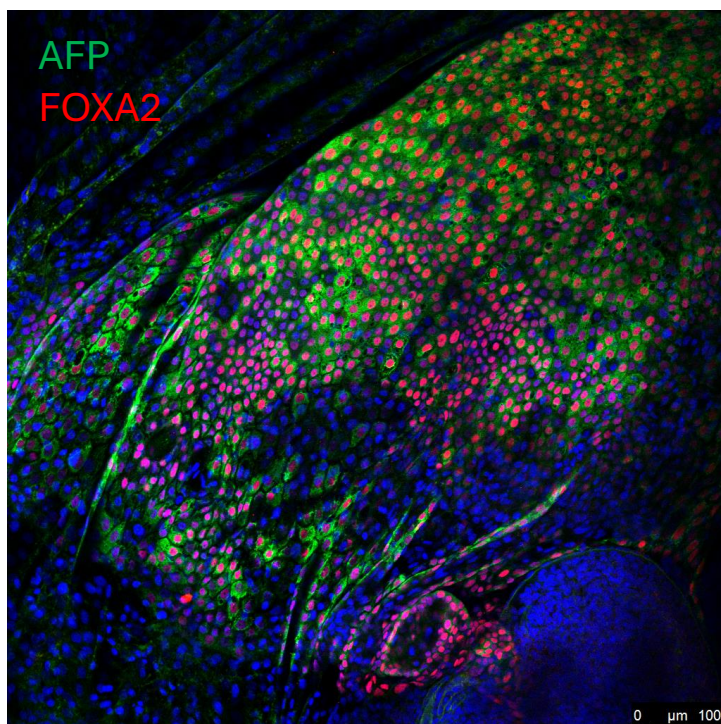
Diferenciación *in vitro*



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: 32720879

Name: S PBiPS1199-Sv4F-2 p11

NHC: CT0665

Department: IDIBELL

Date: 10/19/2023

Sample: CM



Case: 32720879 Slide: 3 Cell: 2

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_PBIPS1199_SV4F-2 P14	1221796	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 1221796	
D8S1179	8	11	13
D21S11	21q11.2-q21	29	33.2
D7S820	7q11.21-22	7	10
CSF1PO	5q33.3-34	11	13
D3S1358	3p	15	17
TH01	11p15.5	7	9
D13S317	13q22-31	8	8
D16S539	16q24-qter	9	13
D2S1338	2q35-37.1	24	25
D19S433	19q12-13.1	14	14.2
VWA	12p12-pter	17	18
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	12	14
D5S818	5q21-31	11	12
FGA	4q28	22	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, 20/12/2023



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
	PBMB1199-M002,28.06.23	1221743	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 1221743	
D8S1179	8	11	13
D21S11	21q11.2-q21	29	33,2
D7S820	7q11.21-22	7	10
CSF1PO	5q33.3-34	11	13
D3S1358	3p	15	17
TH01	11p15.5	7	9
D13S317	13q22-31	8	8
D16S539	16q24-qter	9	13
D2S1338	2q35-37.1	24	25
D19S433	19q12-13.1	14	14,2
VWA	12p12-pter	17	18
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	12	14
D5S818	5q21-31	11	12
FGA	4q28	22	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, 26/07/2023



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

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

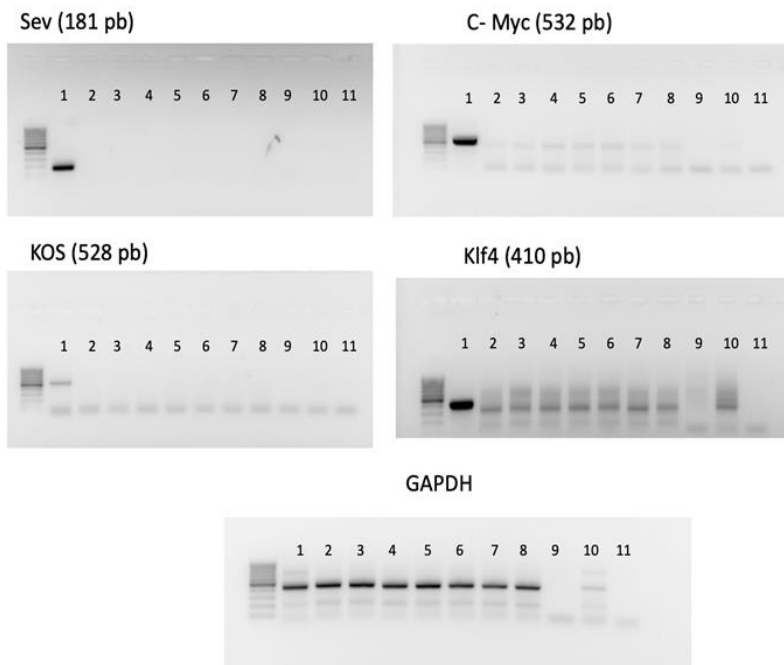
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

14/09/2023

1. POSITIVE CONTROL
2. S_PBiPS1199_Sv4F-2, p9
3. S_PBiPS1199_Sv4F-3, p9
4. S_PBiPS1199_Sv4F-4, p9
5. S_PBiPS1199_Sv4F-8, p9
6. S_PBiPS1785_Sv4F-1, p8
7. S_PBiPS1785_Sv4F-6, p8
8. S_PBiPS1785_Sv4F-8, p8
9. Sample NO RT
10. NEGATIVE CONTROL
11. 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 7

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 02/05/2024



12. S PBiPS1919-Sv4F-2 p9