



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **S PBiPS205-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

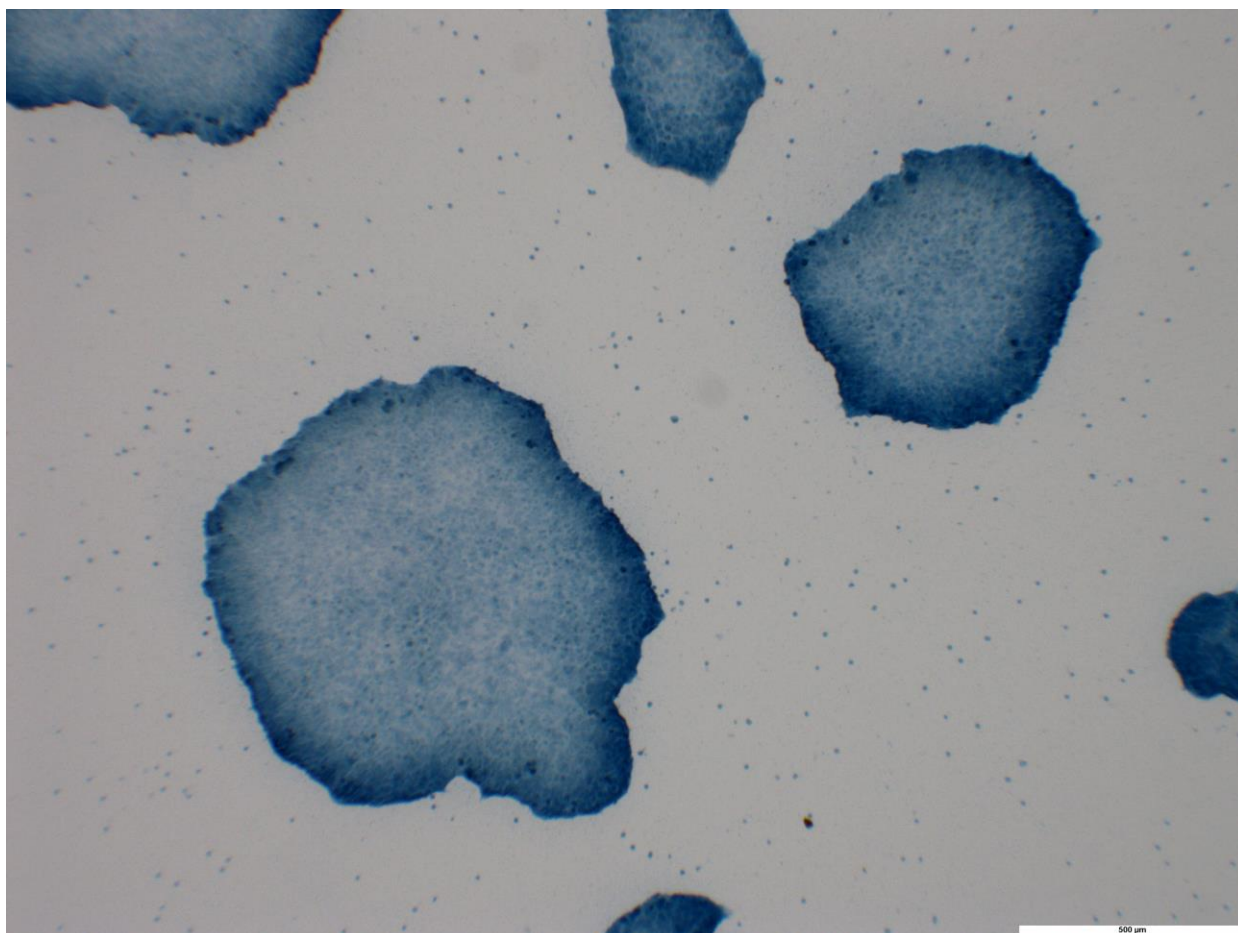
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

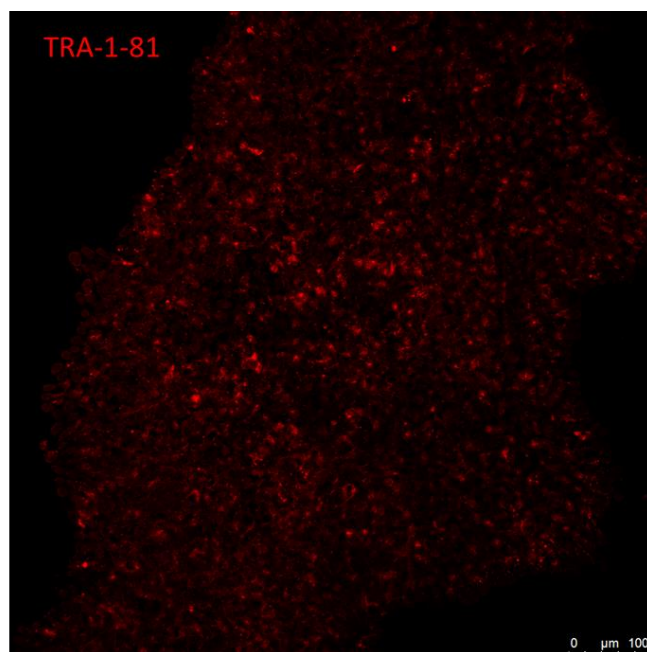
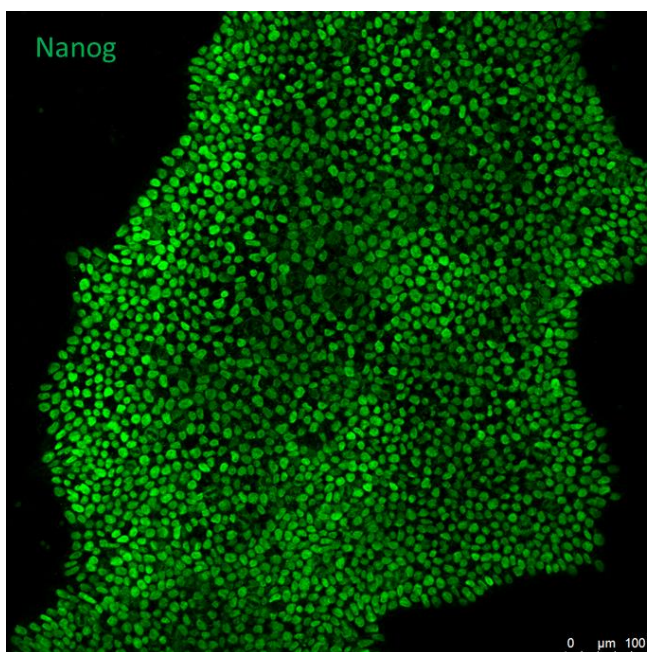


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

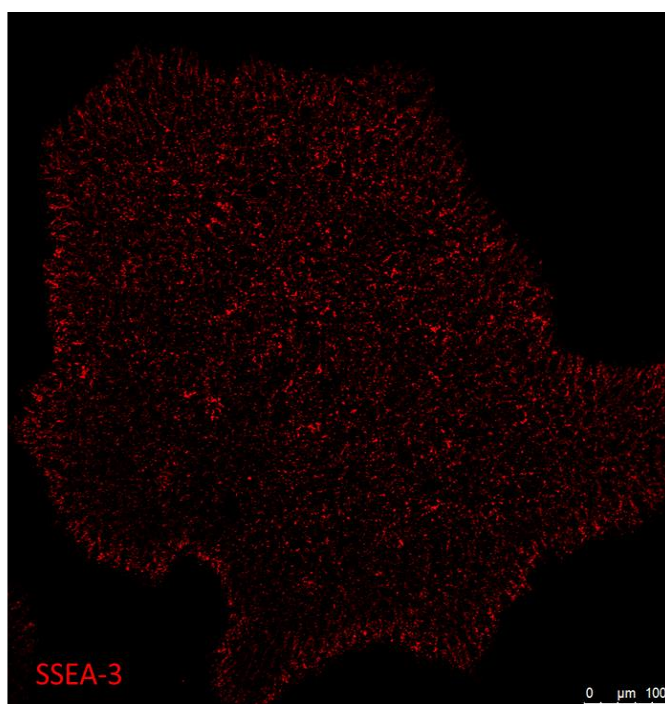
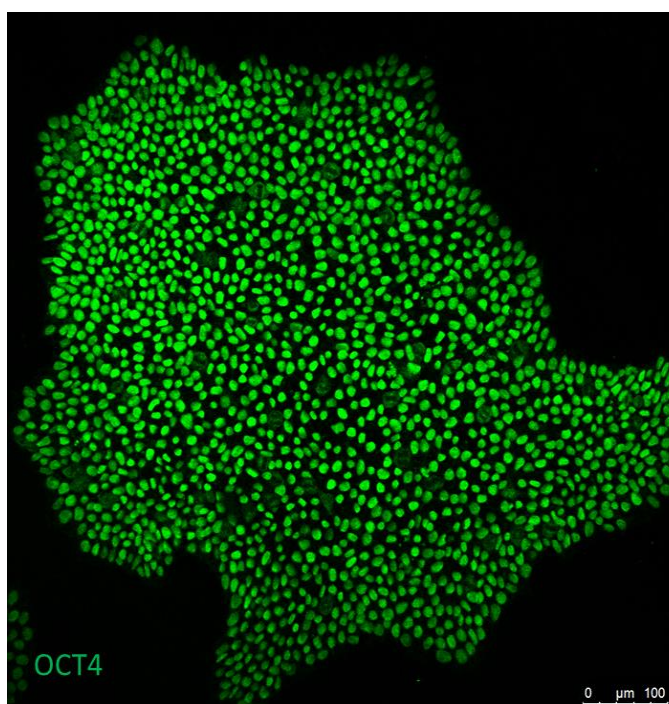


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



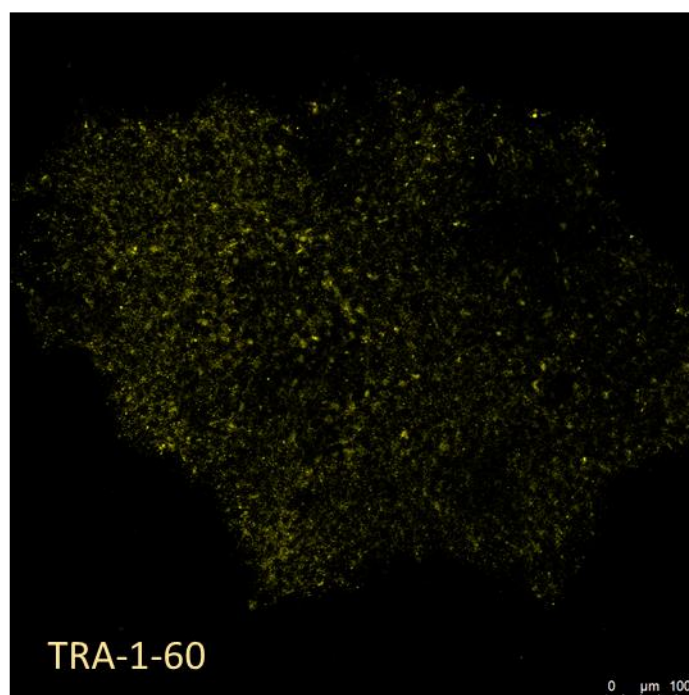
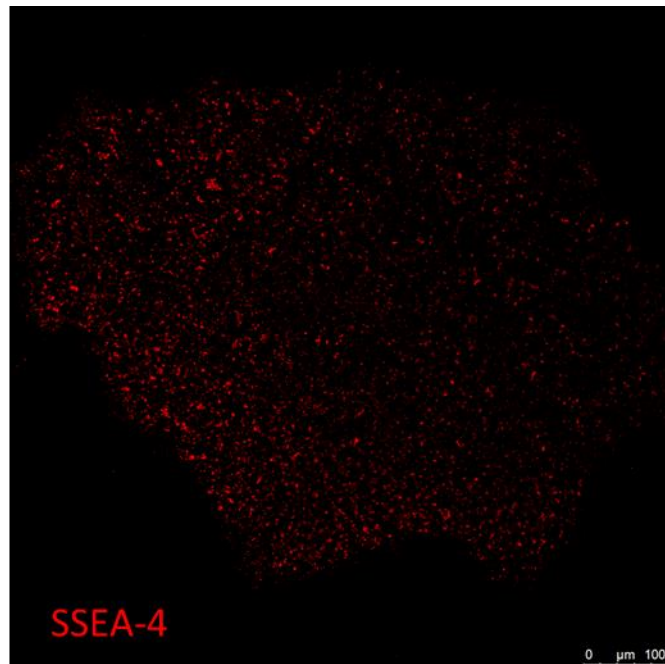
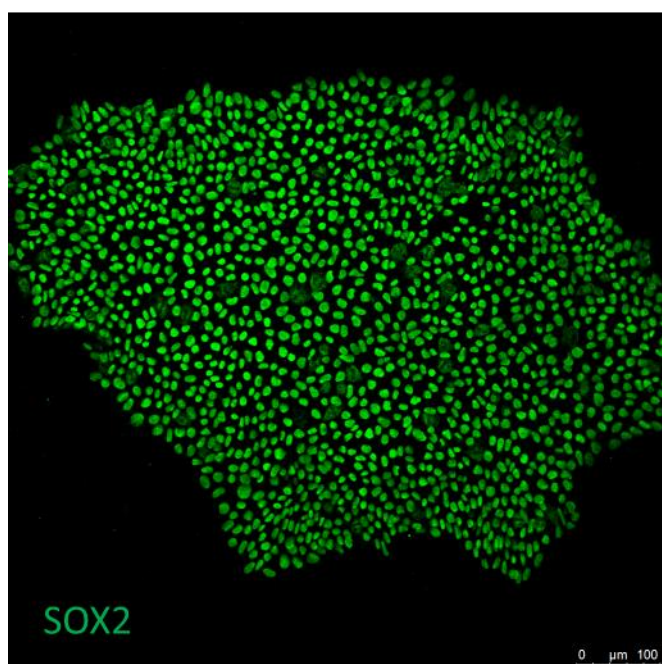
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



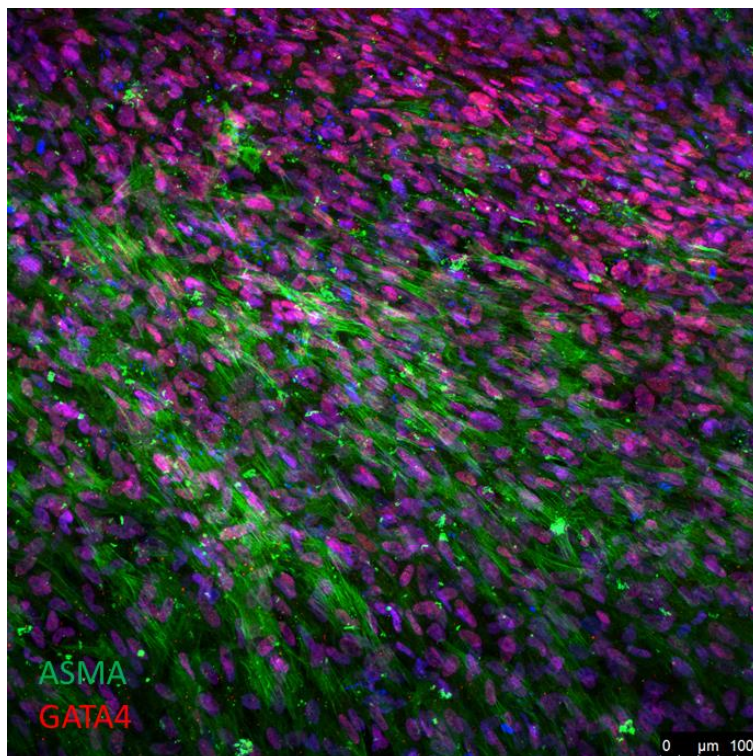
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

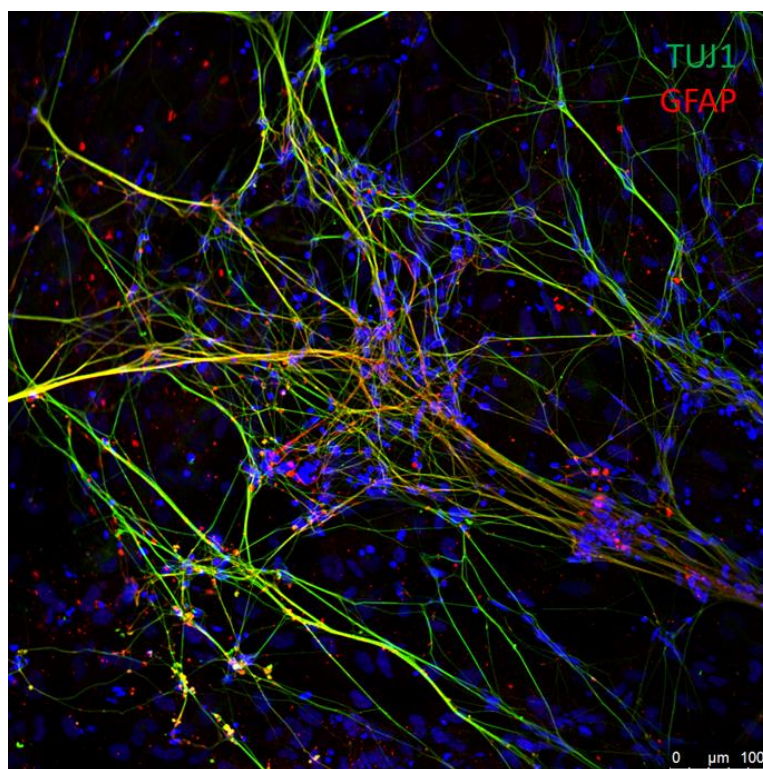


Anexo 2

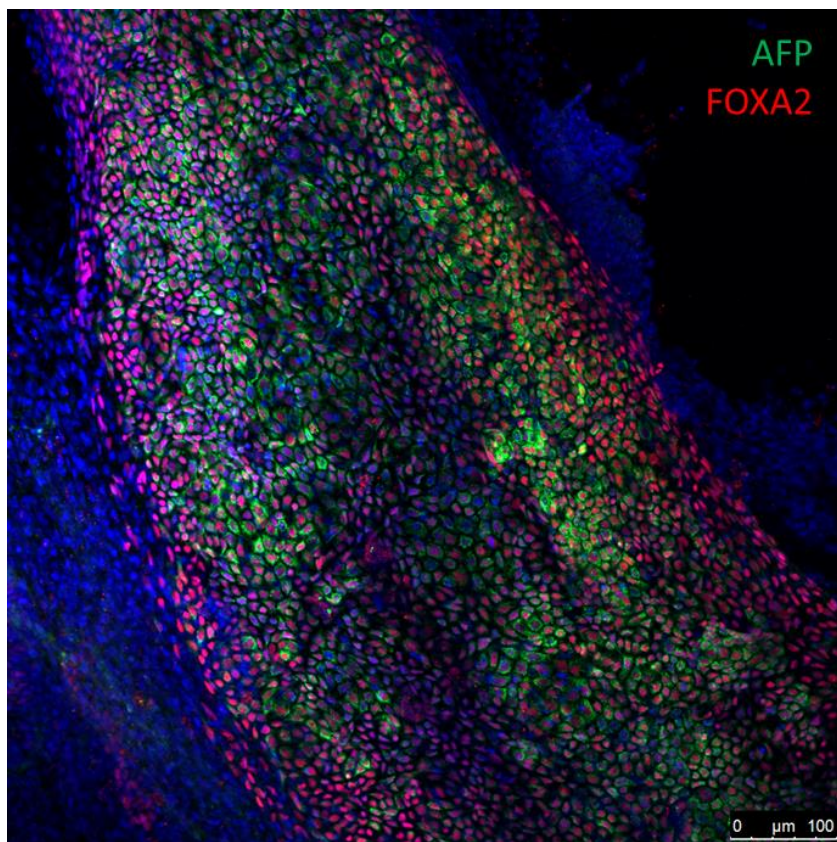
Diferenciación *in vitro*



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: 50300635

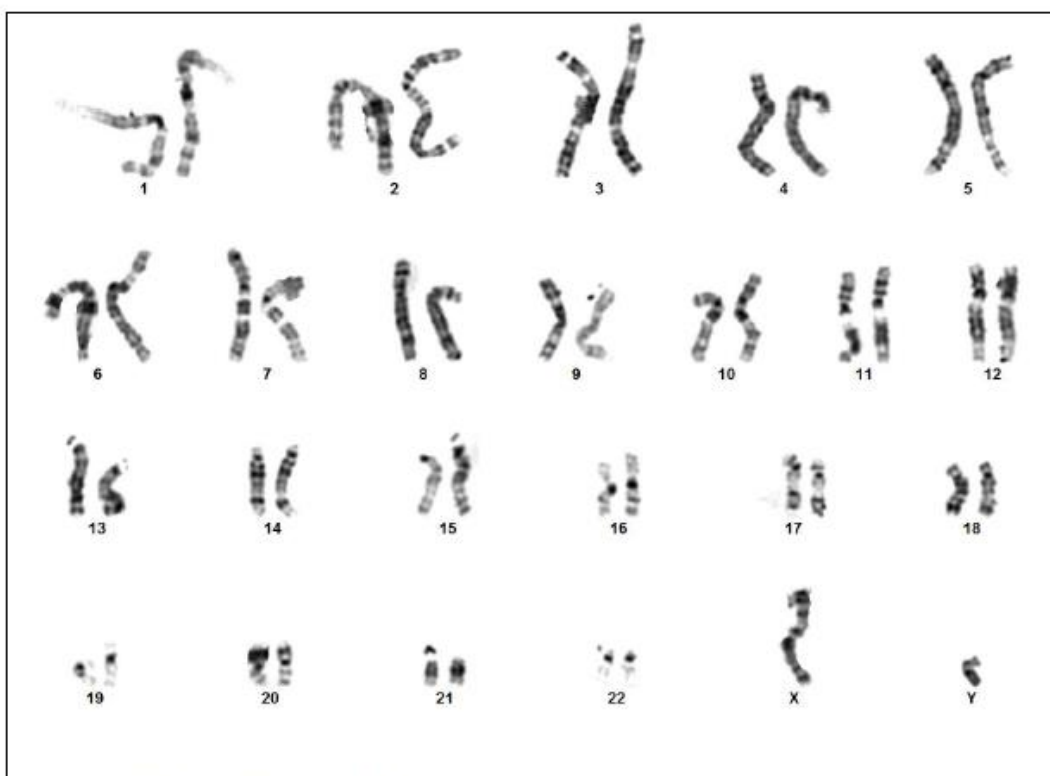
Name: SPBiPS205-Sv4F-12 p9

NHC: CT0991

Department: IDIBELL

Sample: CM

Date: 2/6/2025



Case: 50300635 Slide: 2 Cell: 4

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsátélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
Mostra:	S PBIPS205-SV4F-12 P12	1335164	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 1335164	
D8S1179	8	13	13
D21S11	21q11.2-q21	30	31
D7S820	7q11.21-22	10	13
CSF1PO	5q33.3-34	12	12
D3S1358	3p	14	16
TH01	11p15.5	9	9,3
D13S317	13q22-31	12	12
D16S539	16q24-qter	9	10
D2S1338	2q35-37.1	17	25
D19S433	19q12-13.1	14	15
VWA	12p12-pter	16	16
TPOX	2p23-2per	10	11
D18S51	18q21.3	14	16
D5S818	5q21-31	11	12
FGA	4q28	21	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, 09/04/2025



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

<u>Mostra:</u>	<u>Identificació</u>	<u>ID Ambar</u>	<u>Tipus de mostra</u>
	PERIPHERAL BLOOD 205 18.09.24	1335137	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 1335137	
D8S1179	8	13	13
D21S11	21q11.2-q21	30	31
D7S820	7q11.21-22	10	13
CSF1PO	5q33.3-34	12	12
D3S1358	3p	14	16
TH01	11p15.5	9	9,3
D13S317	13q22-31	12	12
D16S539	16q24-qter	9	10
D2S1338	2q35-37.1	17	25
D19S433	19q12-13.1	14	15
VWA	12p12-pter	16	16
TPOX	2p23-2per	10	11
D18S51	18q21.3	14	16
D5S818	5q21-31	11	12
FGA	4q28	21	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, 05/11/2024



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.



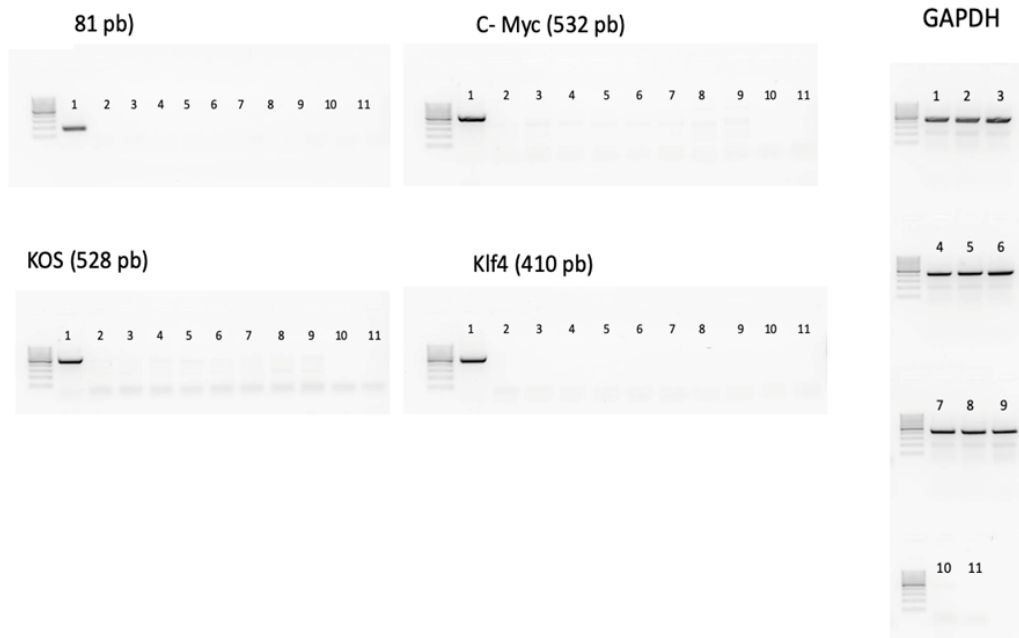
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

10/01/2025

1. Fb34101, Sv-infected
2. HFHNC PBiPS034-Sv4F-10 p8
3. HFHNC PBiPS034-Sv4F-11 p9
4. HFHNC PBiPS034-Sv4F-12 p8
5. HFHNC PBiPS034-Sv4F-15 p8
6. SPBiPS 205-Sv4F-2 p7
7. SPBiPS 205-Sv4F-5 p10
8. SPBiPS 205-Sv4F-11 p6
9. SPBiPS 205-Sv4F-12 p7
10. Sample NO RT
11. H2O



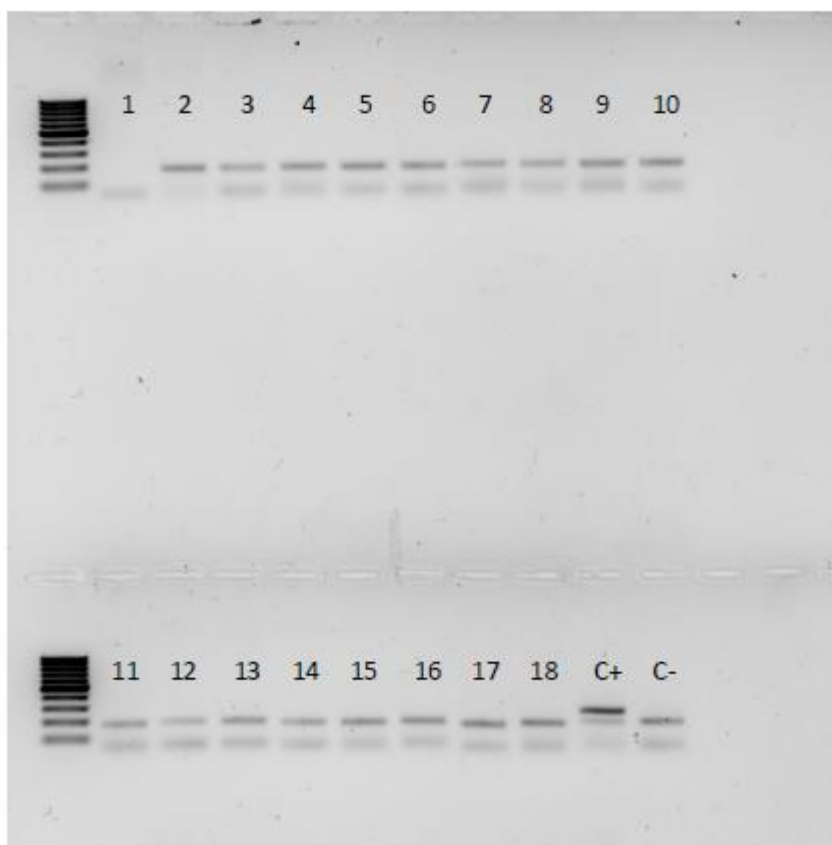
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 26/03/2025



Mycoplasma 265-278 bp
Internal control 191 bp

3. S PBiPS205-Sv4F-12 p11