



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **S PBiPS149-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

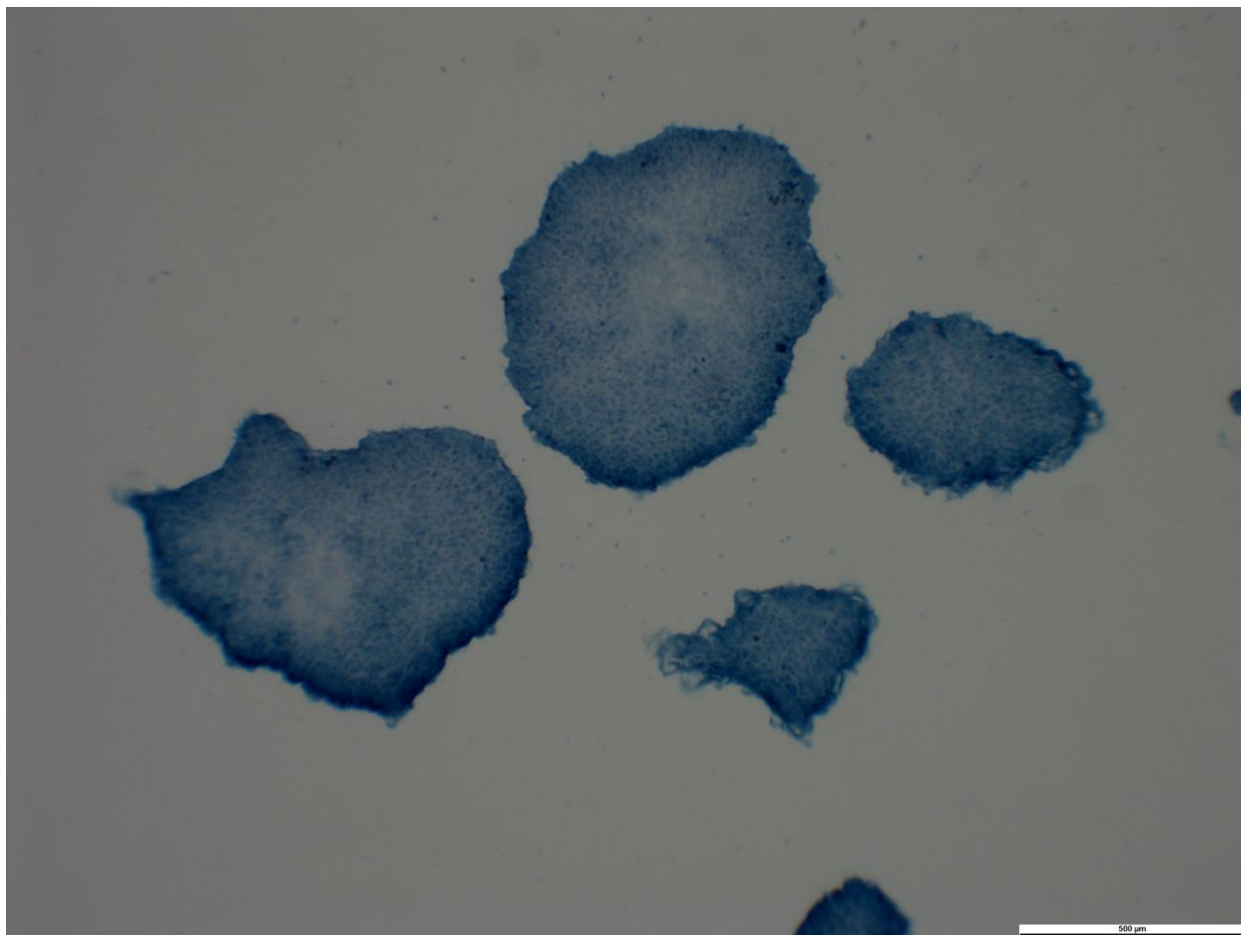
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

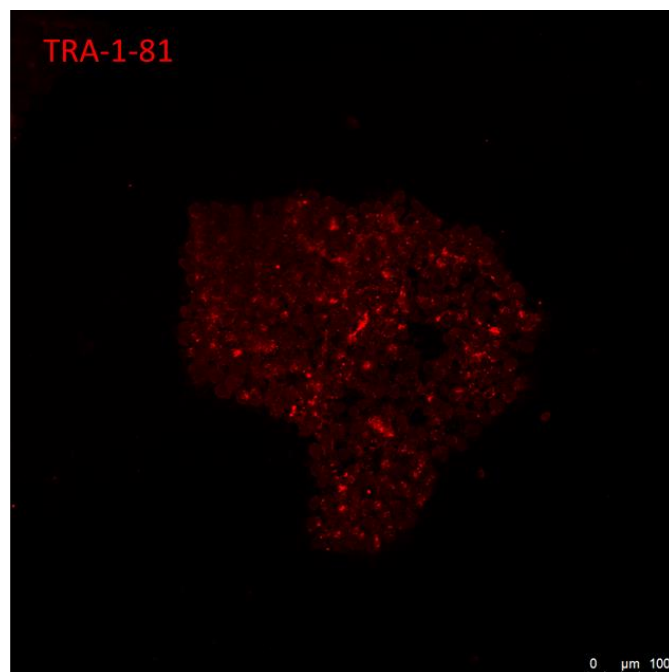
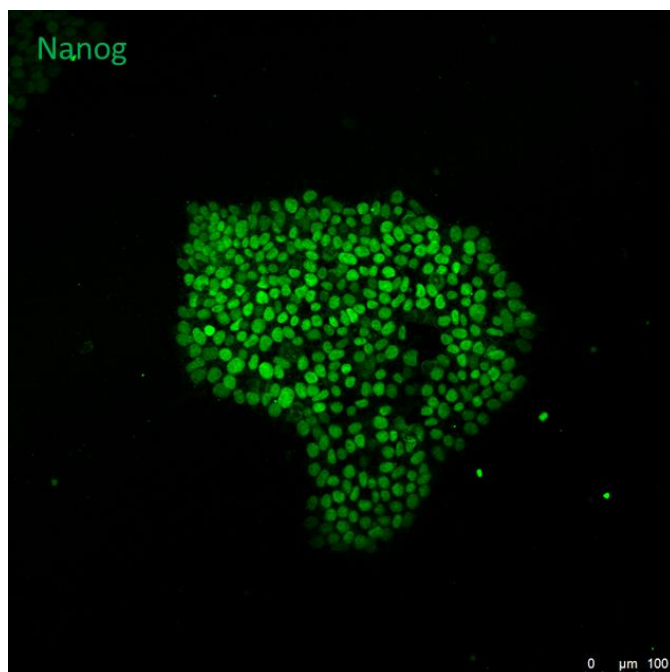


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

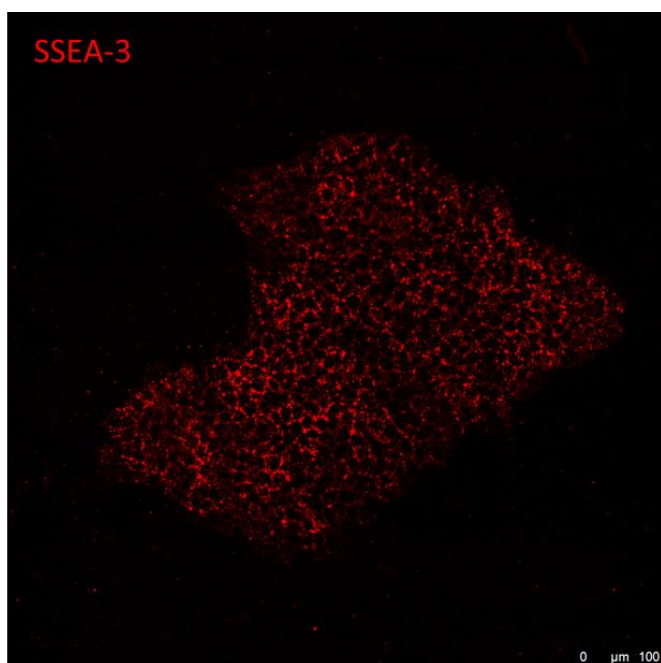
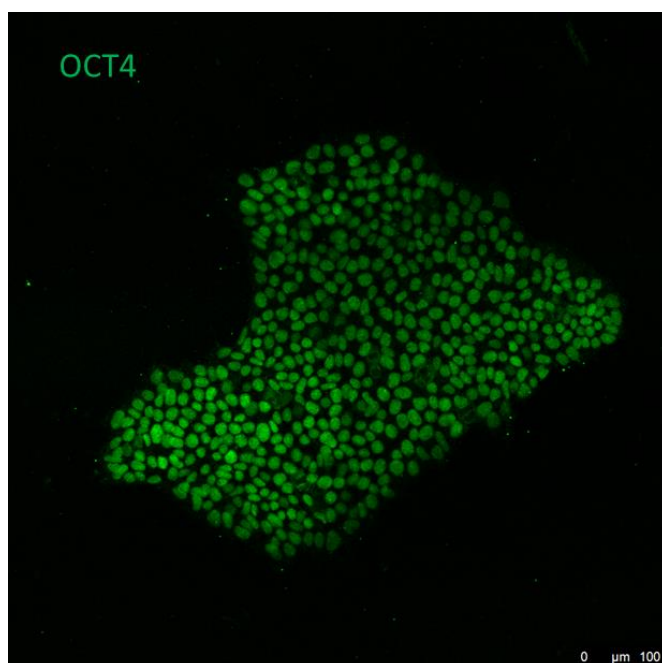


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



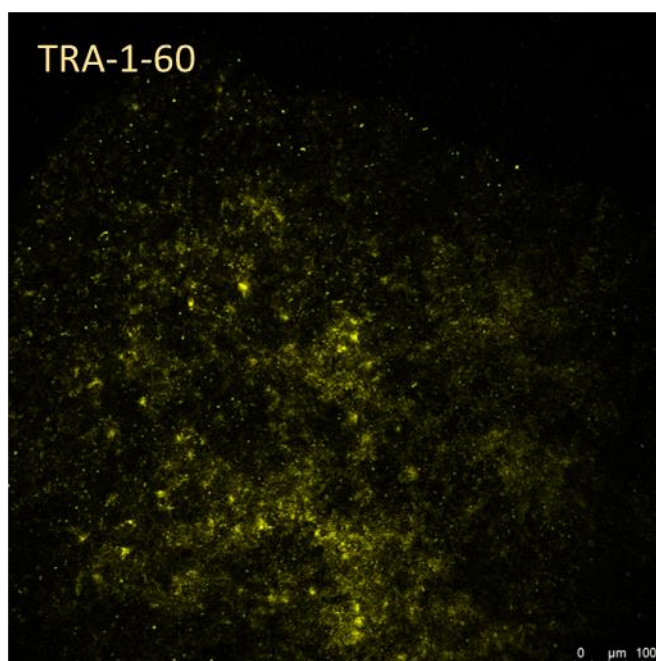
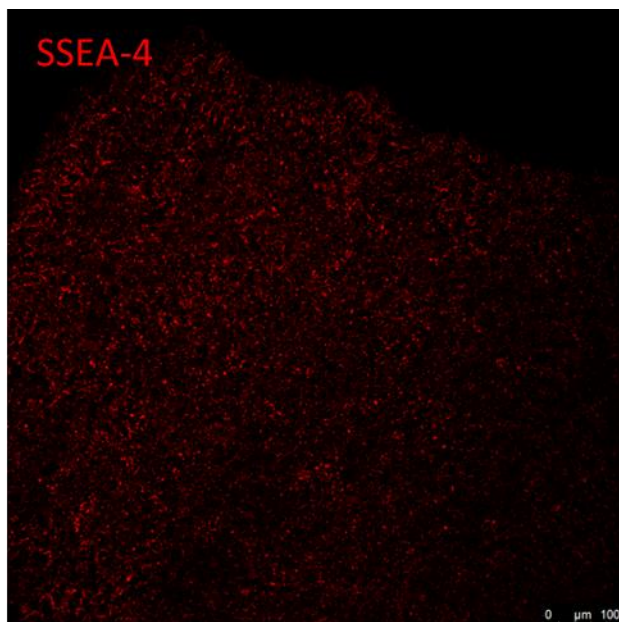
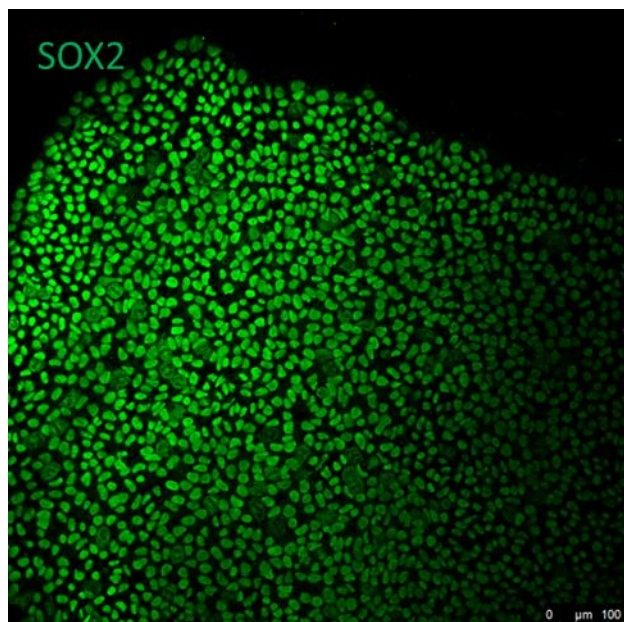
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



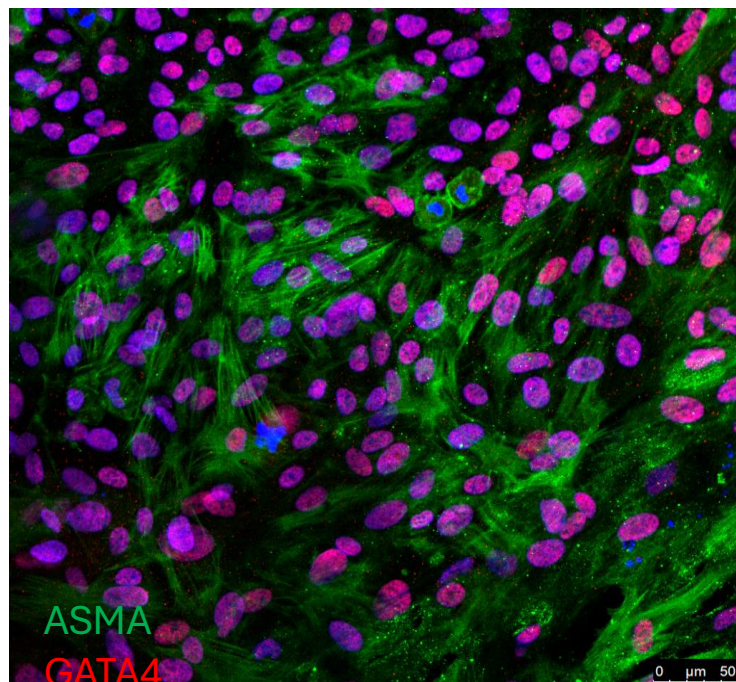
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

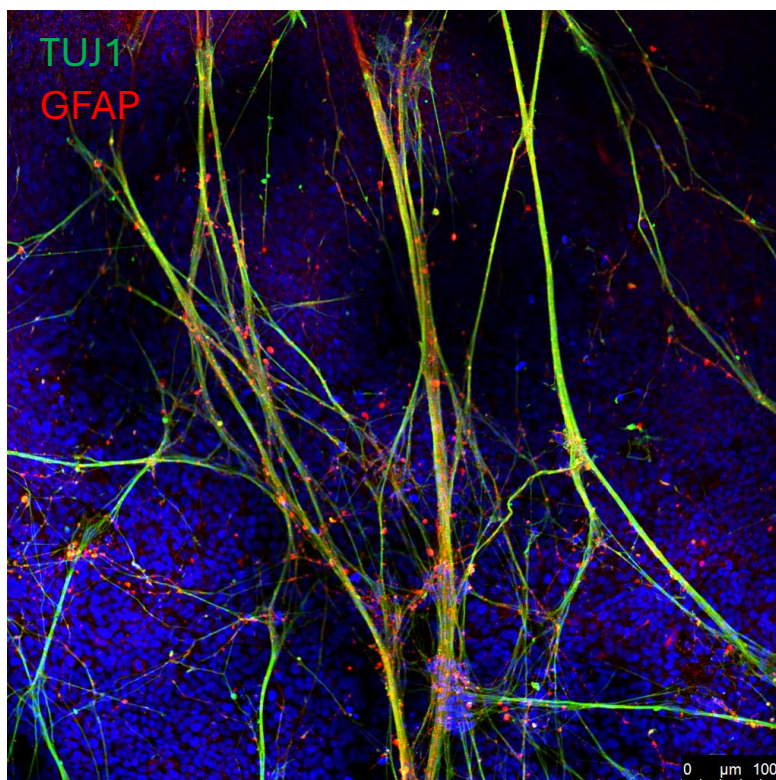


Anexo 2

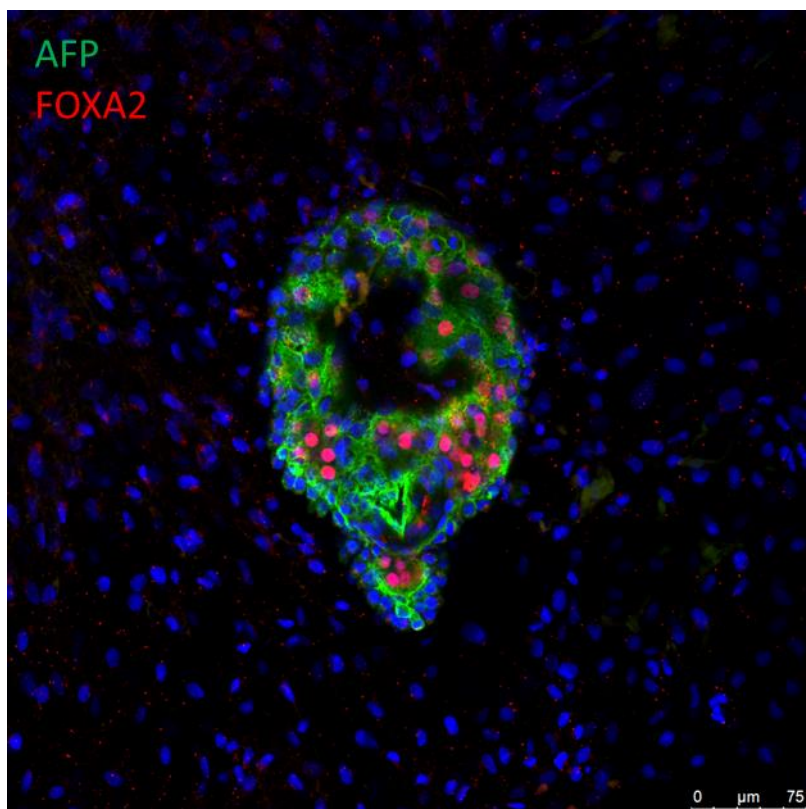
Diferenciación *in vitro*



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: 43470665

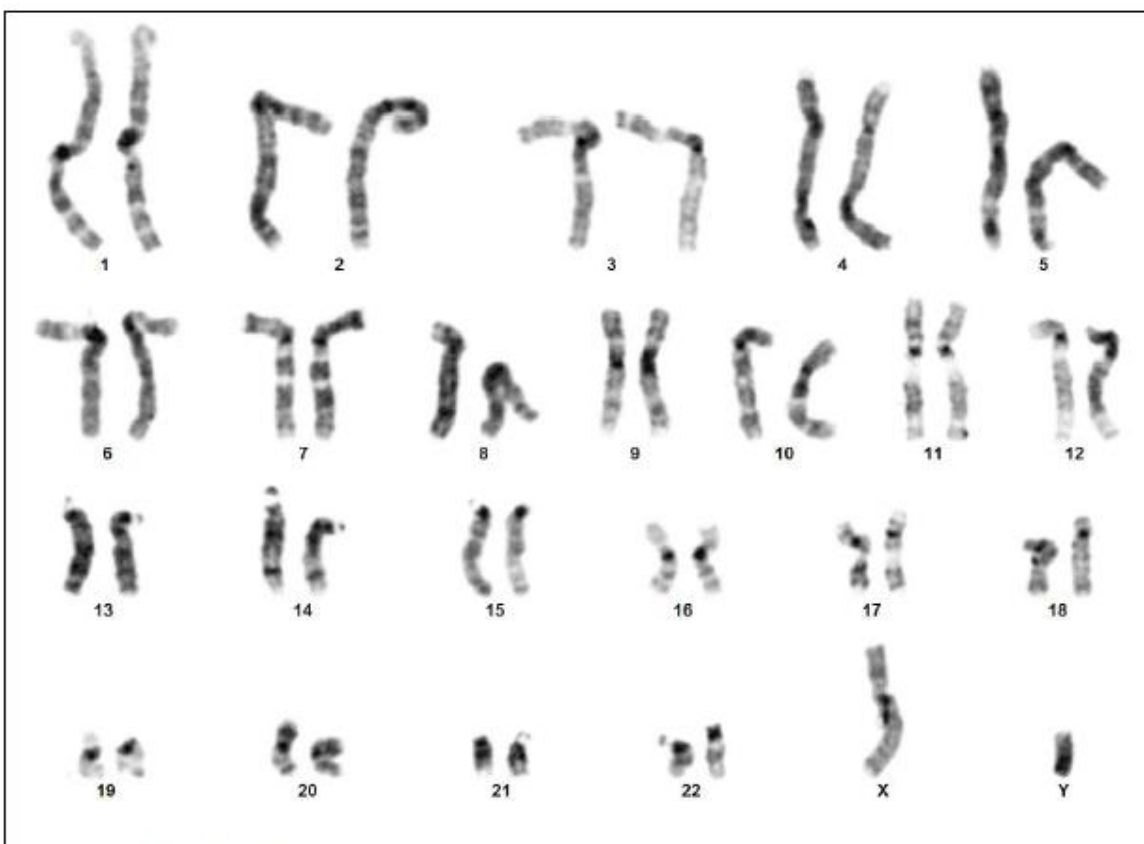
Name: S PBiPS149-Sv4F-12 p9

NHC: CT0956

Department: IDIBELL

Sample: CM

Date: 12/17/2024



Case: 43470665 Slide: 2 Cell: 7F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsátélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació SPBIPS149-SV4F-12 P9	ID Ambar 1335279	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 1335279	
D8S1179	8	14	15
D21S11	21q11.2-q21	28	28
D7S820	7q11.21-22	10	12
CSF1PO	5q33.3-34	11	14
D3S1358	3p	14	17
TH01	11p15.5	6	9,3
D13S317	13q22-31	9	9
D16S539	16q24-qter	12	12
D2S1338	2q35-37.1	20	20
D19S433	19q12-13.1	13	15
VWA	12p12-pter	16	17
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	13	17
D5S818	5q21-31	12	12
FGA	4q28	21	22,2
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, 23/01/2025



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra: **Identificació** **ID Ambar** **Típus de mostra**
 PERIPHERAL BLOOD 149 16.09.24 1335135 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 1335135	
D8S1179	8	14	15
D21S11	21q11.2-q21	28	28
D7S820	7q11.21-22	10	12
CSF1PO	5q33.3-34	11	14
D3S1358	3p	14	17
TH01	11p15.5	6	9,3
D13S317	13q22-31	9	9
D16S539	16q24-qter	12	12
D2S1338	2q35-37.1	20	20
D19S433	19q12-13.1	13	15
VWA	12p12-pter	16	17
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	13	17
D5S818	5q21-31	12	12
FGA	4q28	21	22,2
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
19/11/2024

1. Fb 34101, Sv-infected,
2. S PBiPS149_Sv4F-1 p8
3. S PBiPS149_Sv4F-7 p6
4. S PBiPS149_Sv4F-9 p7
5. S PBiPS149_Sv4F-12 p7
6. Sample NO RT
7. H2O

Sev (181 pb)



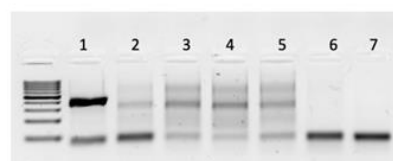
C- Myc (532 pb)



KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



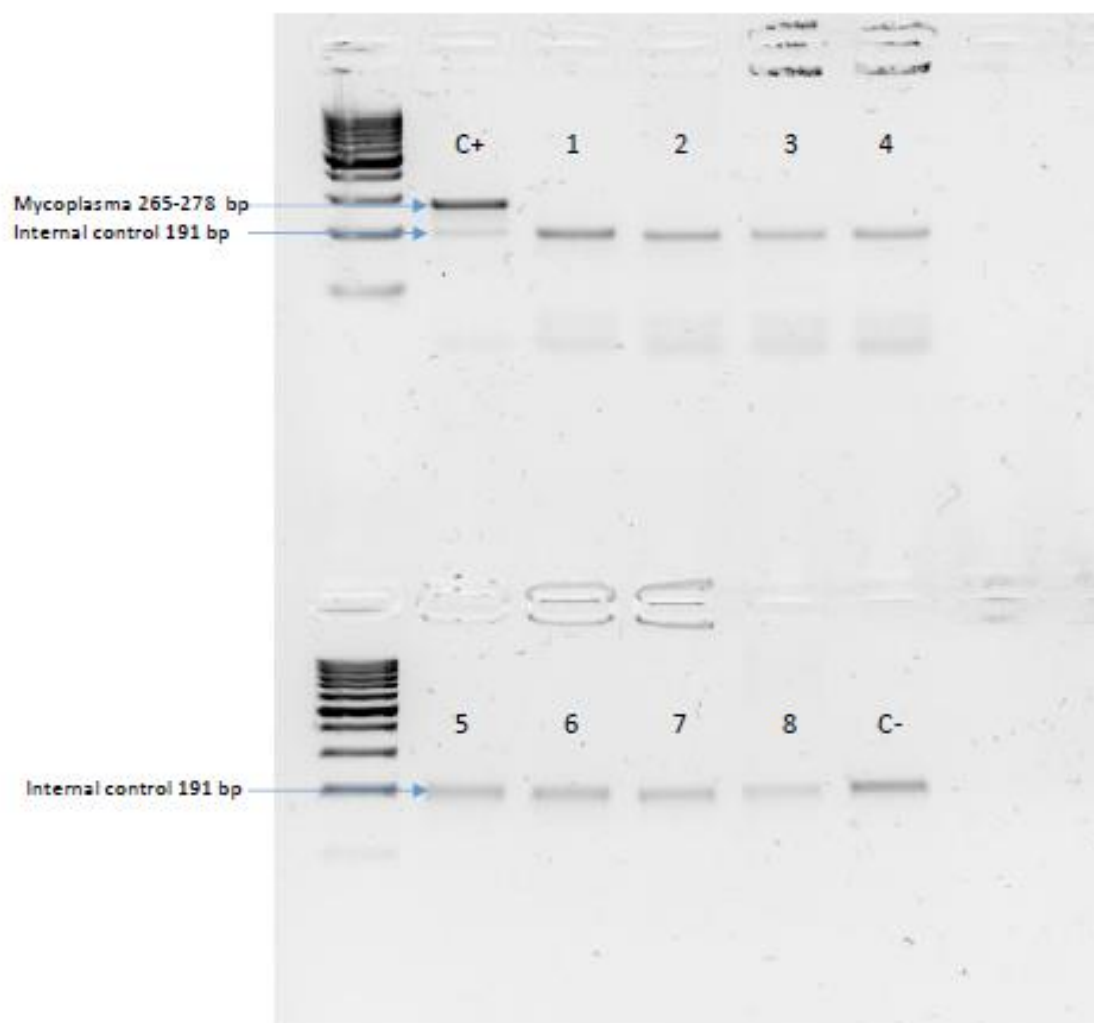
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 29/01/2025



2. S PBiPS149-Sv4F-12 p9