



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR **GRIN1 PBiPS CAT001-Sv4F-6**  
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

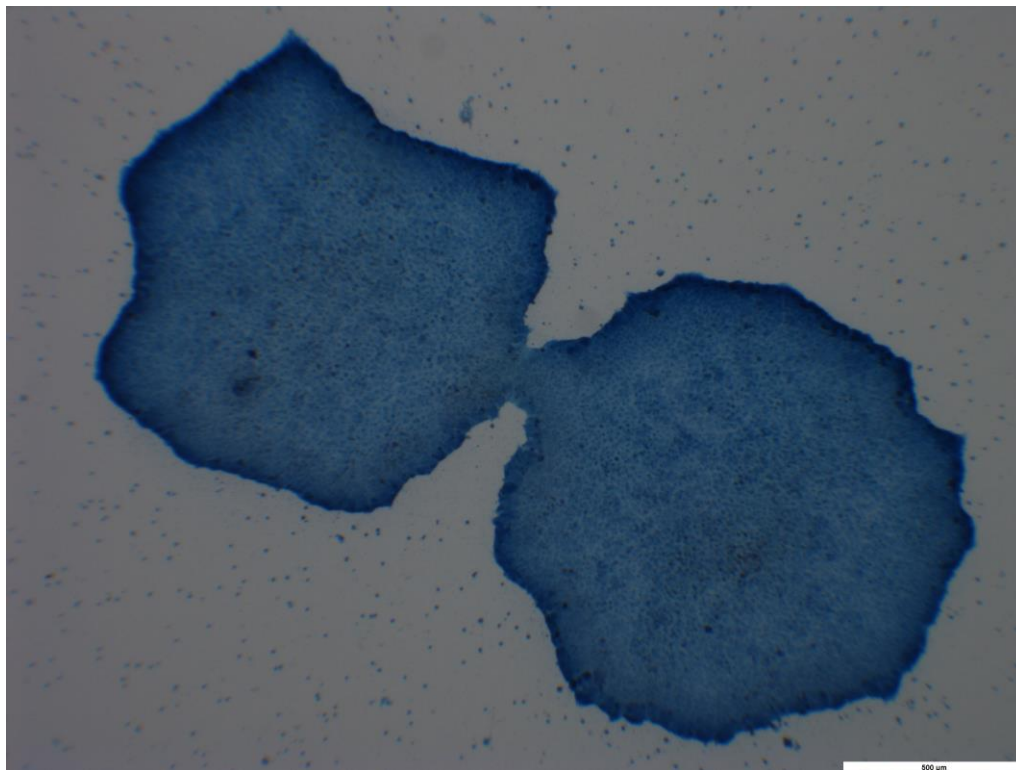
Anexo 6: Comprobación de la presencia de la mutación

Anexo 7: Resultado test de micoplasma

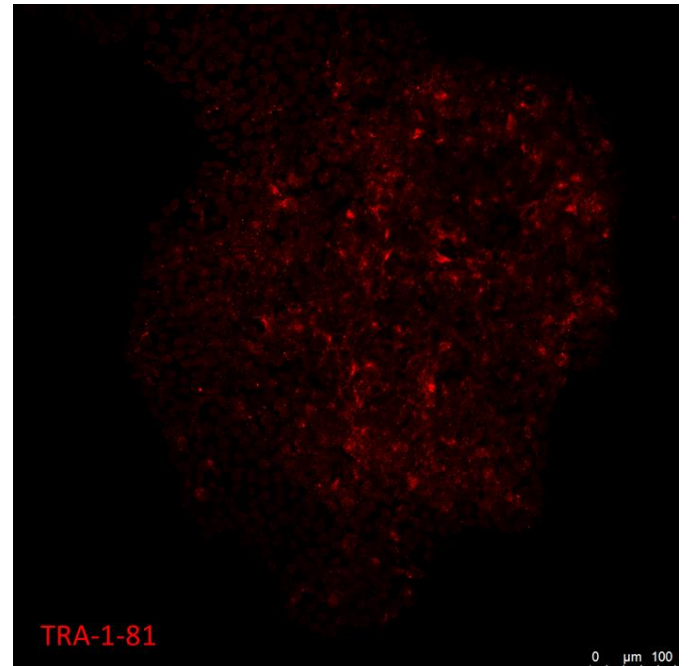
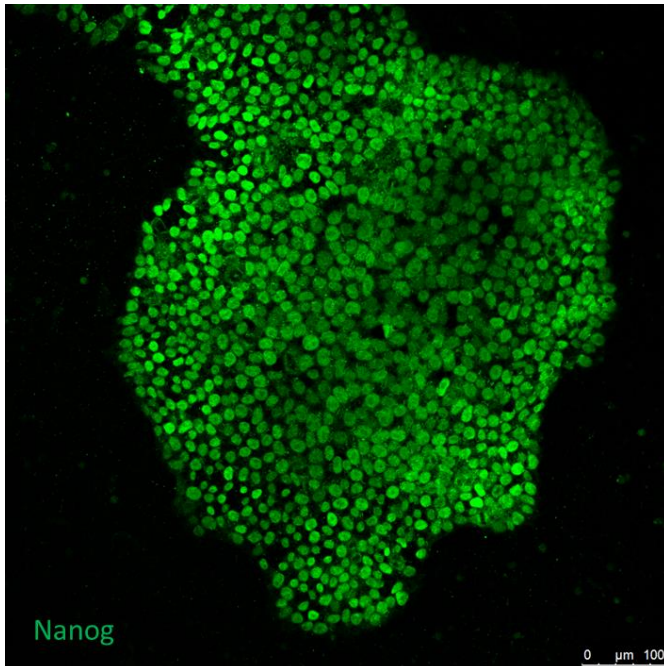


## **Anexo 1**

### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**

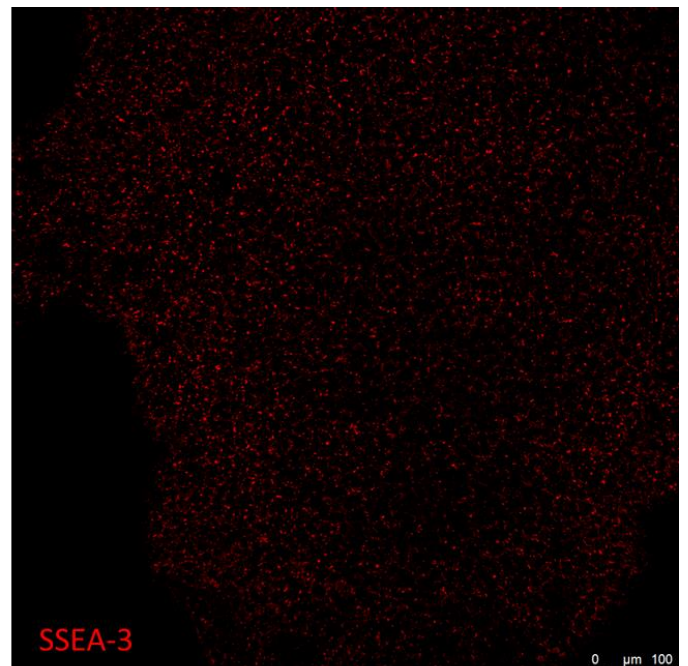
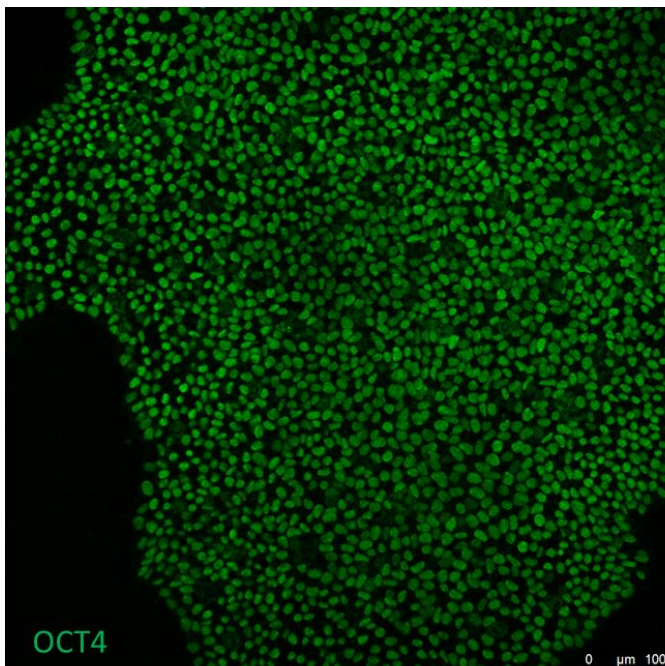


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



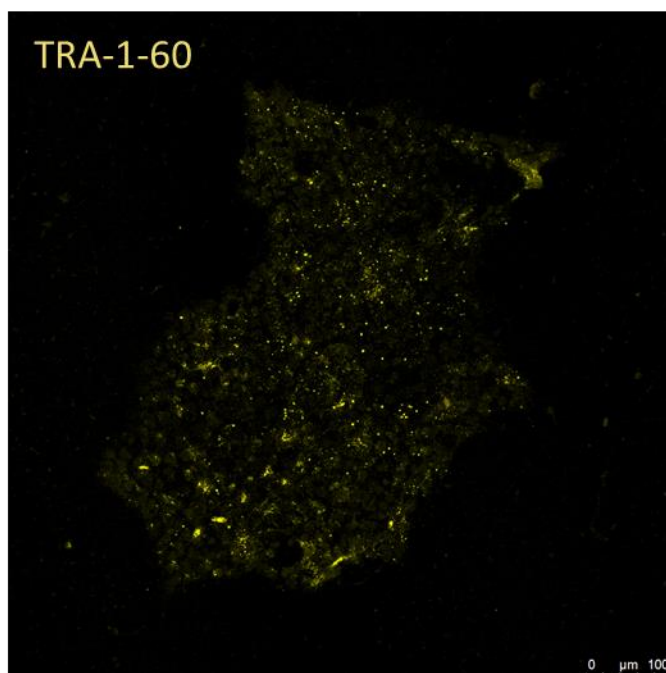
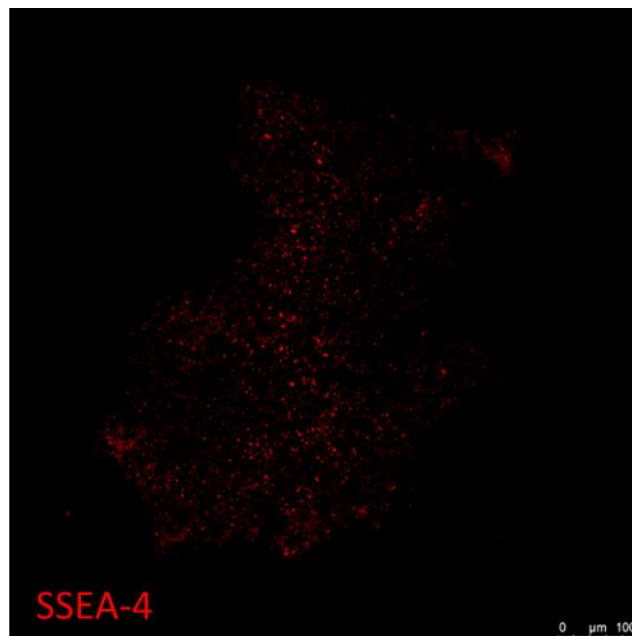
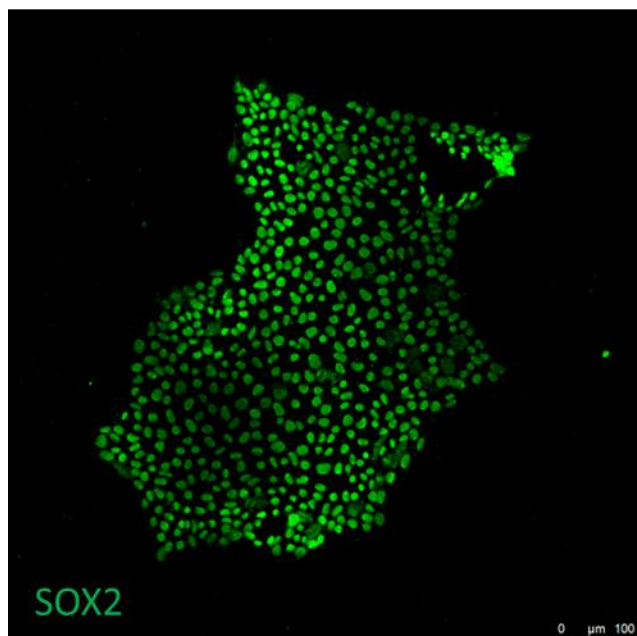
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**



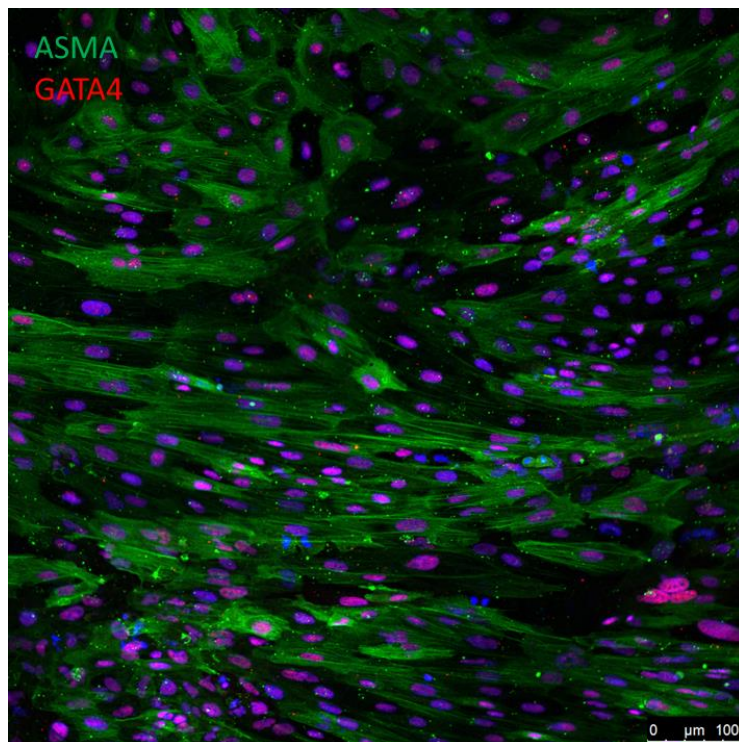
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

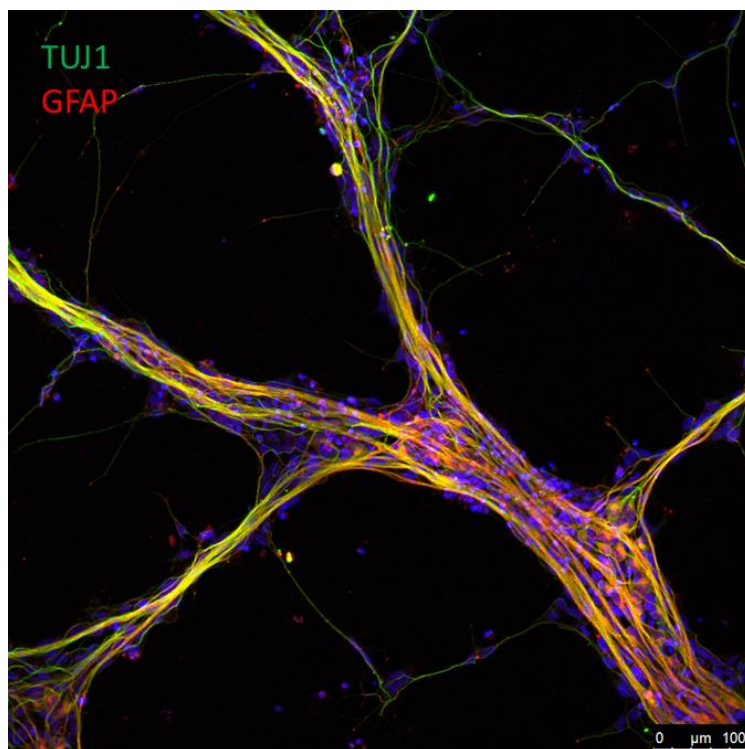


## **Anexo 2**

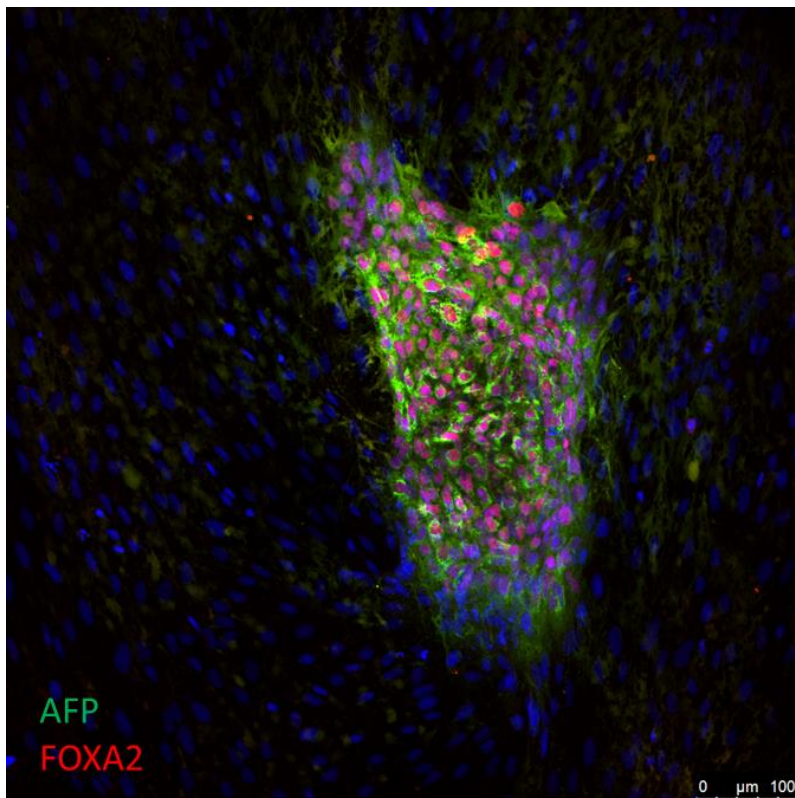
### **Diferenciación *in vitro***



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

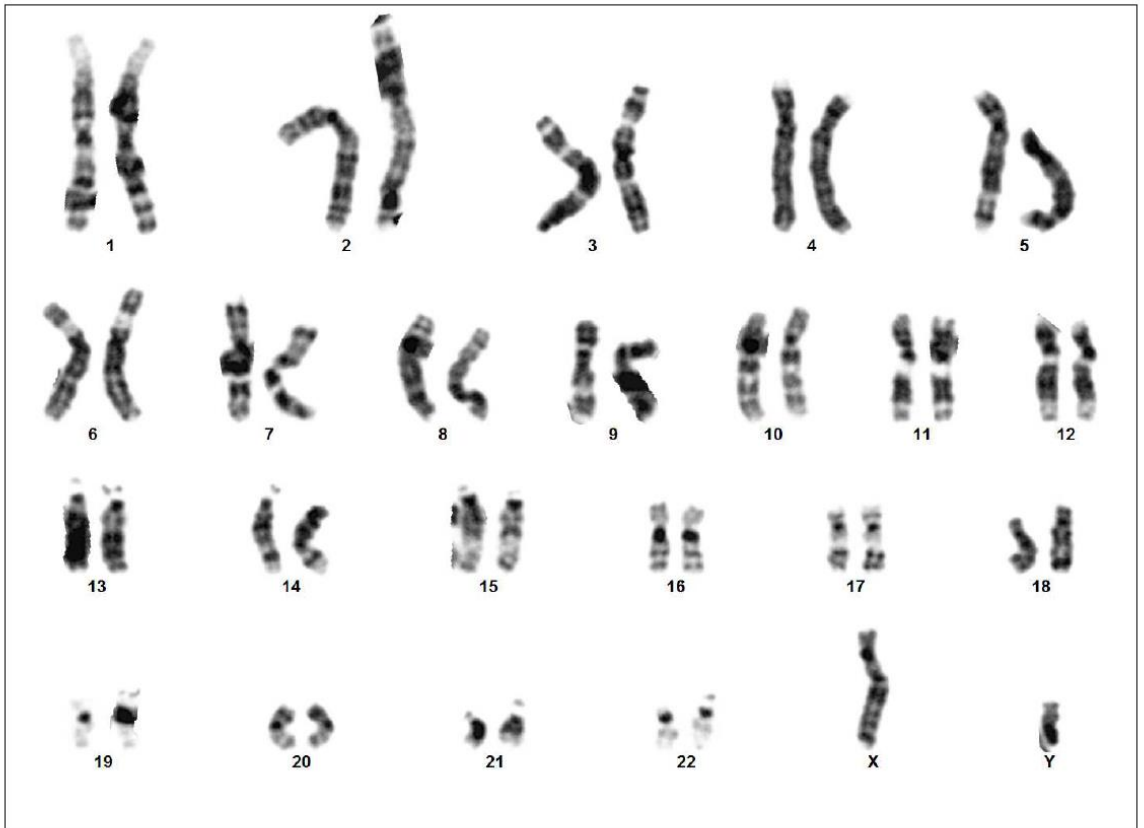
Case name: 51430680

Name: GRIN1 PBiPS CAT001-Sv4F-6 p8

NHC: CT1075

Sample: CM

Date: 6/5/2025



Case: 51430680 Slide: 2 Cell: 4F

Result: 46,XY



## **Anexo 4**

### **Resultado microsatélites**

### ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

**Mostra:** **Identificació** **ID Ambar** **Tipus de mostra**  
GRIN1 PBIPS CAT001-SV4F-6 P11 68046316 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 68046316	
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)

	<u>Identificació</u>	<u>ID Ambar</u>	<u>Tipus de mostra</u>
<u>Mostra:</u>	PB CAT001 GRIN1	1335145	Extracte DNA

#### Descripció de l'estudi

L'estudi de consisteix en l'anàlisi de microsatèl·lits o "short tandem repeats" (STR) de DNA procedent de 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 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

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



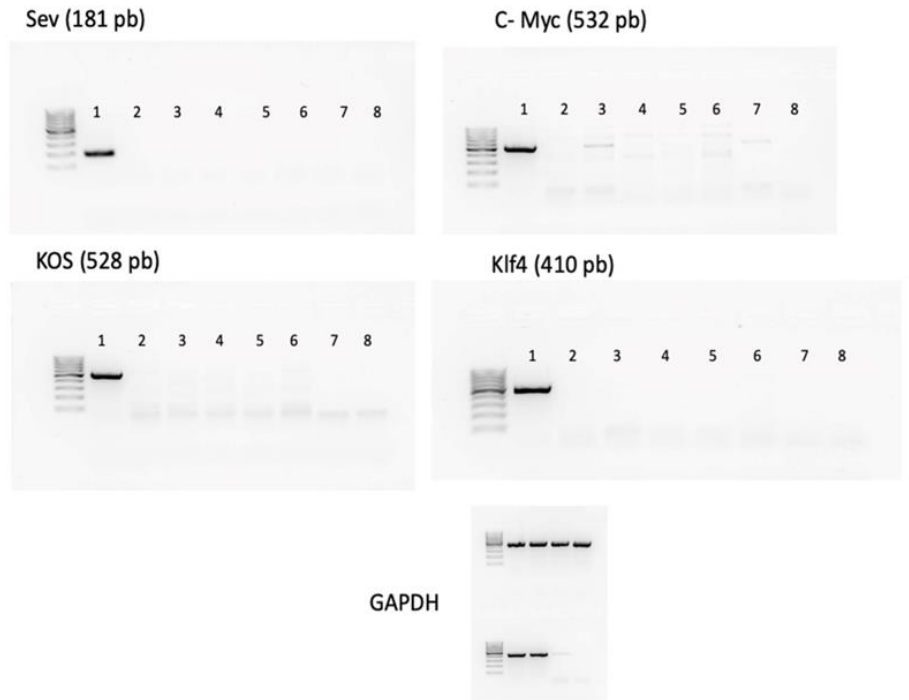
## **Anexo 5**

### **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

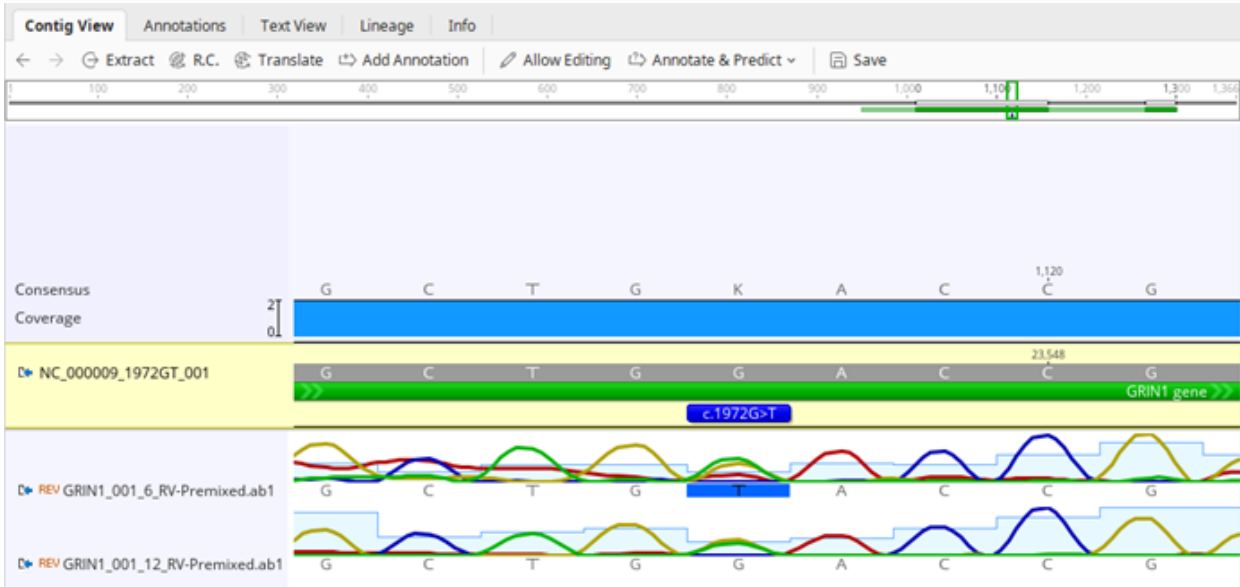


Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



## **Anexo 6**

### **Comprobación de la presencia de la mutación**



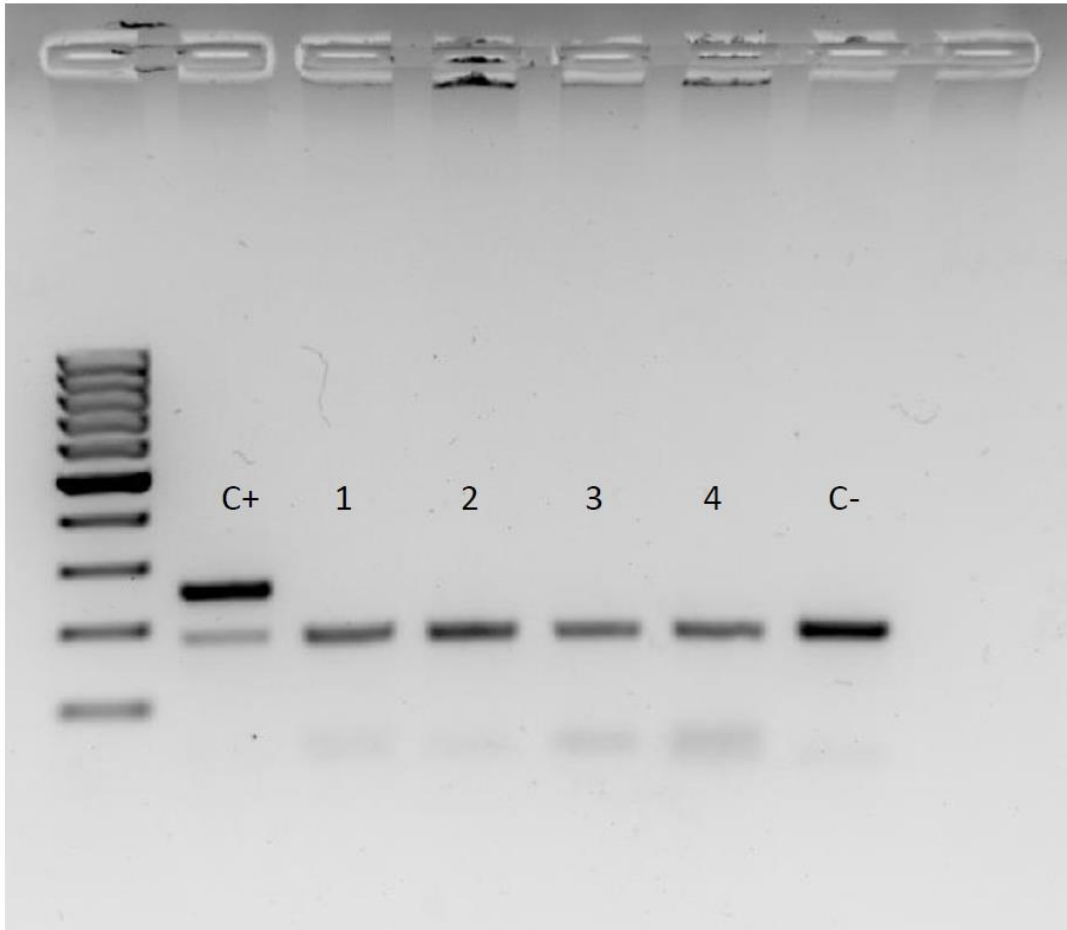
En la figura se observa que las líneas GRIN1 PBiPS CAT001-Sv4F-6 y GRIN1 PBiPS CAT001-Sv4F-12 son portadoras de la mutación de interés en heterocigosis.



## **Anexo 7**

### **Resultado test de micoplasma**

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 09/07/2025



4. GRIN1 PBiPSCAT001-Sv4F-6 p11