



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR **GRIN1 PBiPS CAT002-Sv4F-13**  
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

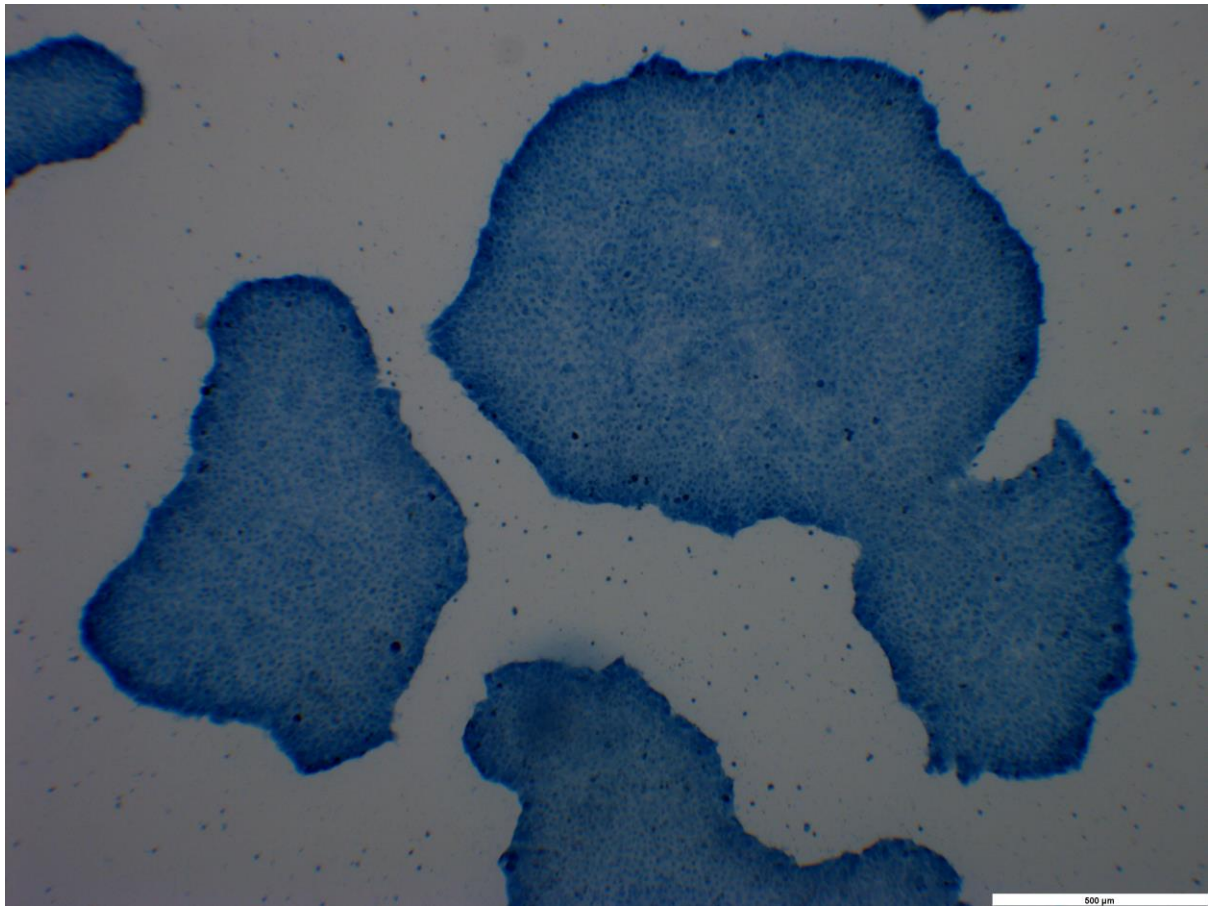
Anexo 6: Comprobación de la presencia de la mutación

Anexo 7: Resultado test de micoplasma

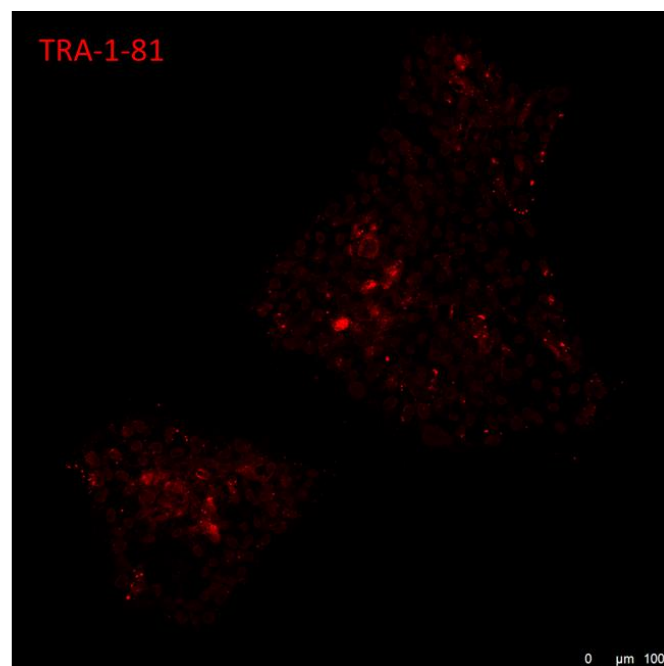
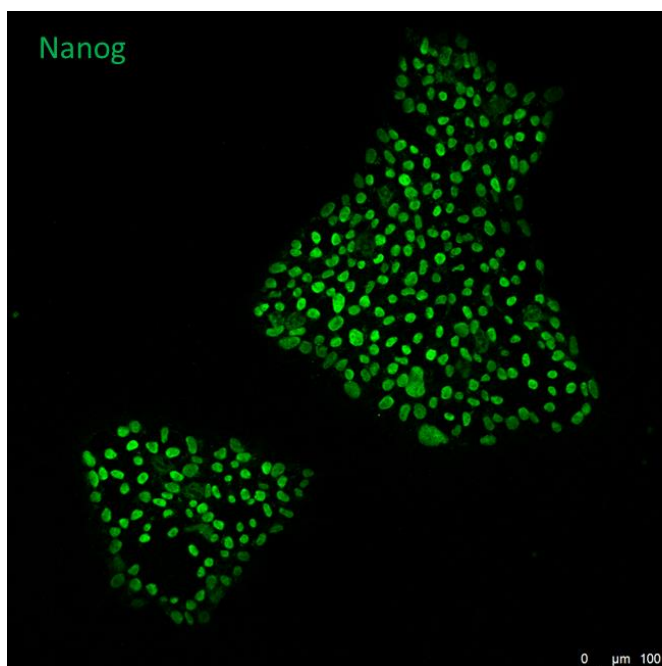


## **Anexo 1**

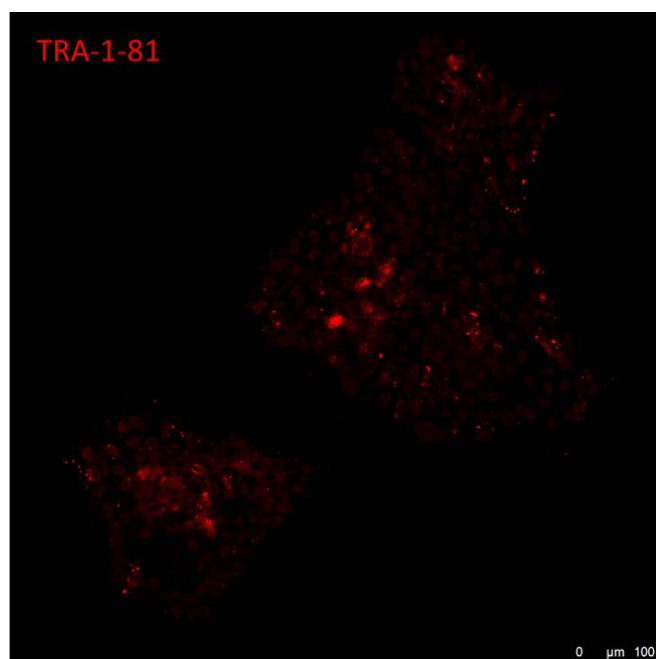
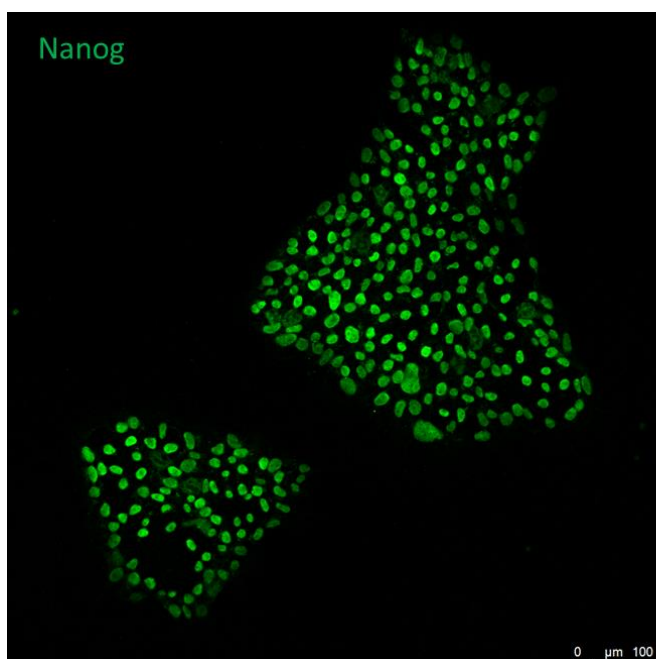
### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**



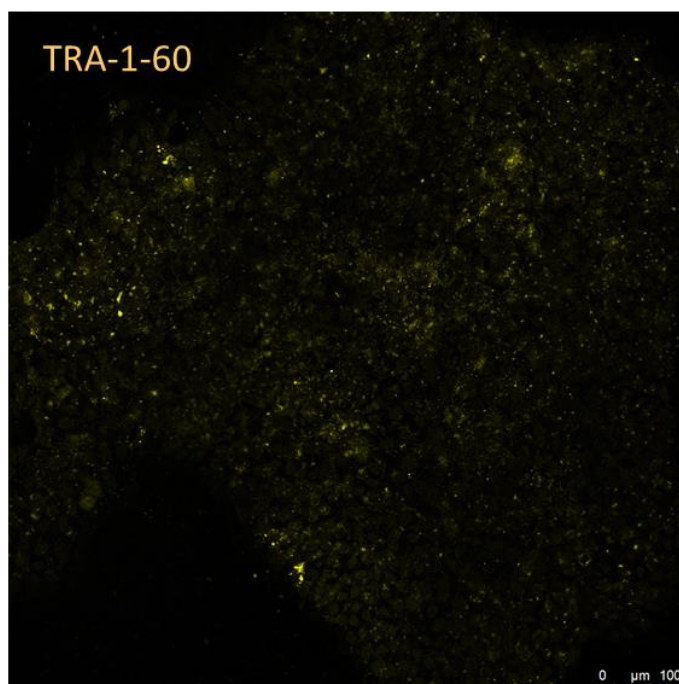
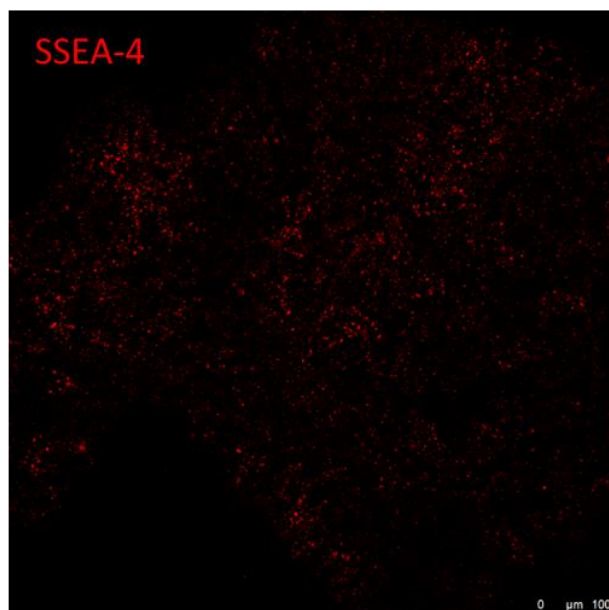
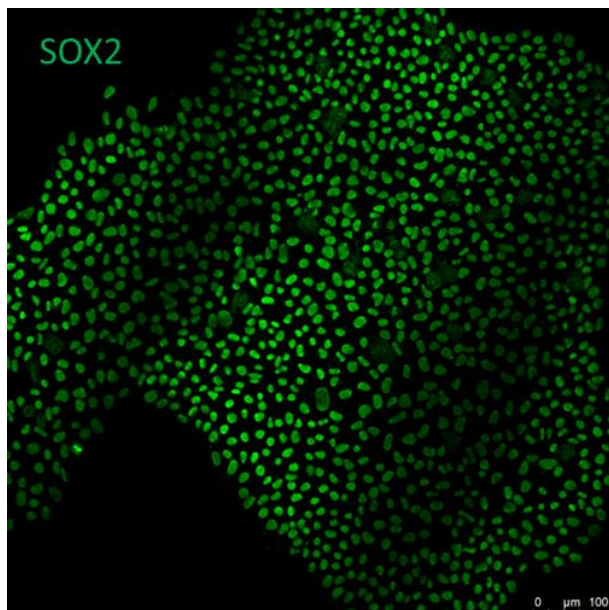
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



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**



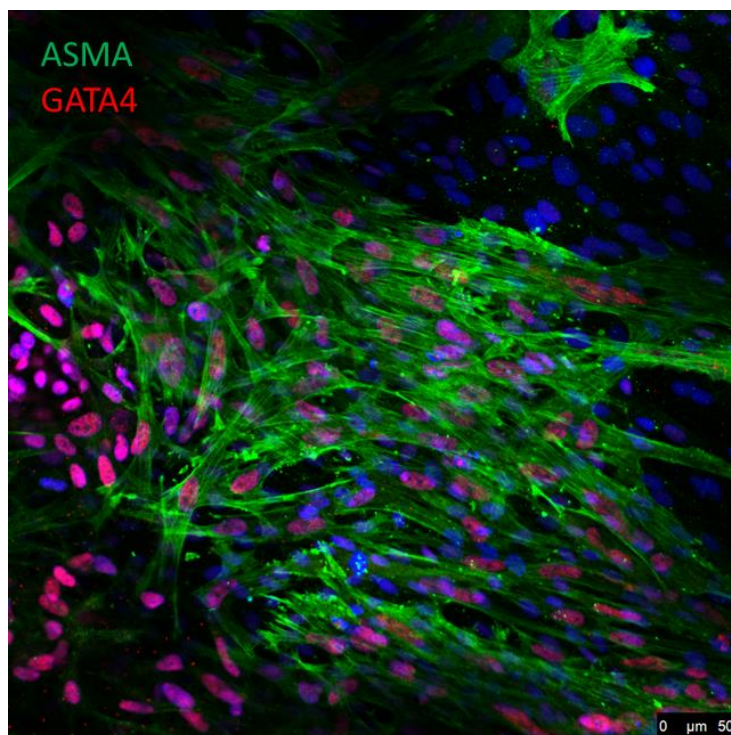
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

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

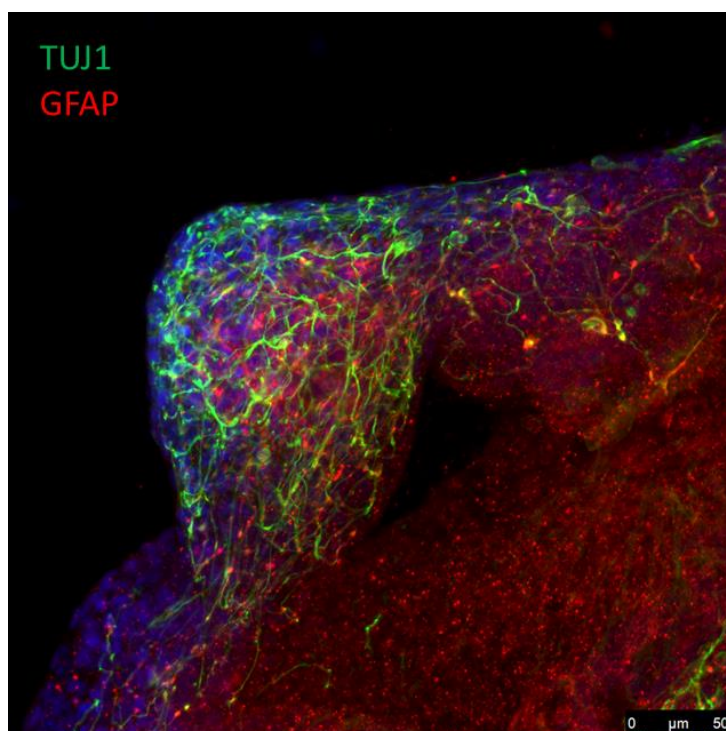


## **Anexo 2**

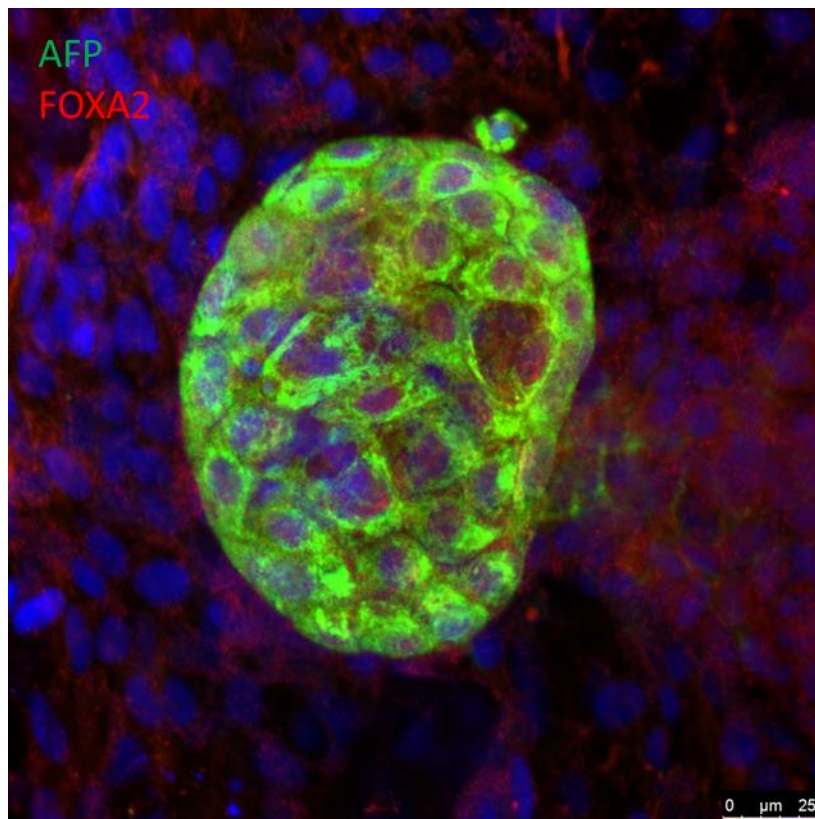
### **Diferenciación *in vitro***



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

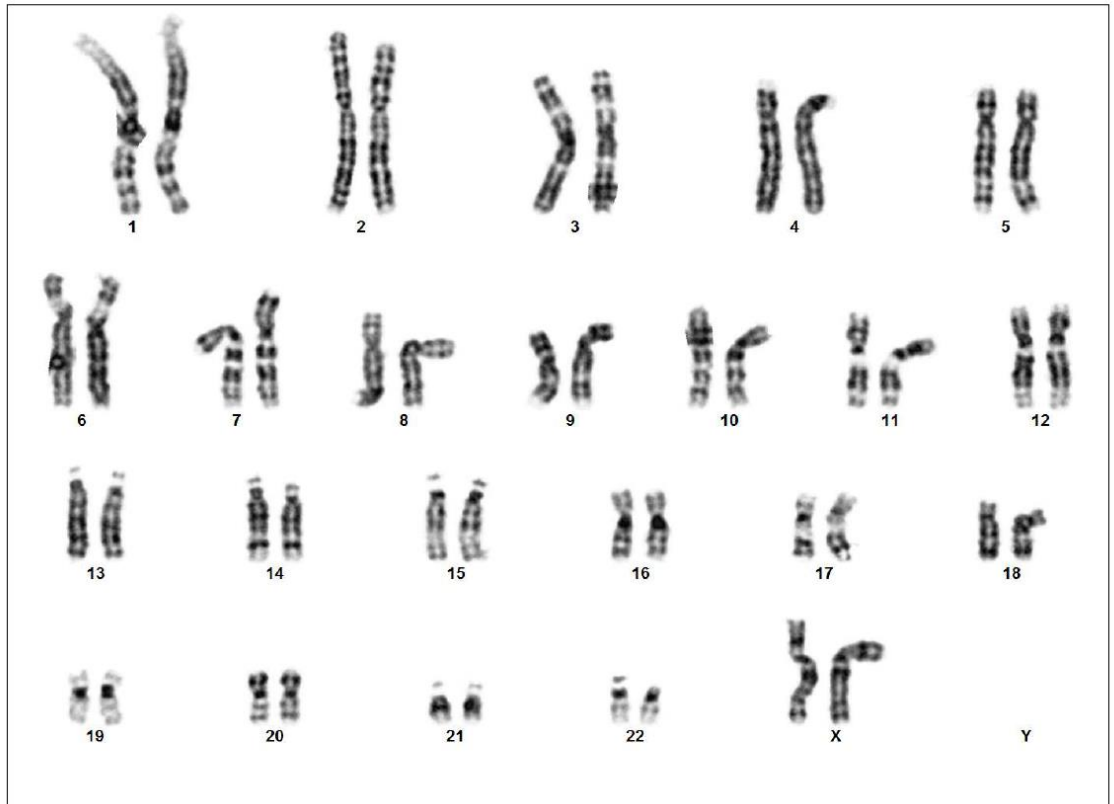
Case name: 51490701

Name: GRIN1 PBiPSCAT002-Sv4F-13

Sample: CM

NHC: CT1085

Date: 6/26/2025



Case: 51490701 Slide: 2 Cell: 2F

Result: 46,XX



## **Anexo 4**

### **Resultado microsatélites**

### ESTUDI DE MICROSATÈL-LITS (STRs)

<b>Mostra:</b>	<b>Identificació</b>	<b>ID Ambar</b>	<b>Tipus de mostra</b>
	GRIN1 PBIPS CAT002-SV4F-13 P12	68046326	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 68046326	
D8S1179	8	10	14
D21S11	21q11.2-q21	30	30
D7S820	7q11.21-22	8	8
CSF1PO	5q33.3-34	12	12
D3S1358	3p	14	15
TH01	11p15.5	7	9,3
D13S317	13q22-31	11	12
D16S539	16q24-qter	11	11
D2S1338	2q35-37.1	19	20
D19S433	19q12-13.1	14	15
VWA	12p12-pter	16	17
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	14	16
D5S818	5q21-31	12	13
FGA	4q28	22	23
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, 29/08/2025



Dr. J.V.Martinez Mas  
Director de Laboratorio

### ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

<b>Mostra:</b>	<b>Identificació</b> PB CAT002 GRIN1	<b>ID Ambar</b> 1335146	<b>Tipus de mostra</b> 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 1335146	
D8S1179	8	10	14
D21S11	21q11.2-q21	30	30
D7S820	7q11.21-22	8	8
CSF1PO	5q33.3-34	12	12
D3S1358	3p	14	15
TH01	11p15.5	7	9,3
D13S317	13q22-31	11	12
D16S539	16q24-qter	11	11
D2S1338	2q35-37.1	19	20
D19S433	19q12-13.1	14	15
VWA	12p12-pter	16	17
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	14	16
D5S818	5q21-31	12	13
FGA	4q28	22	23
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, 27/12/2024



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**

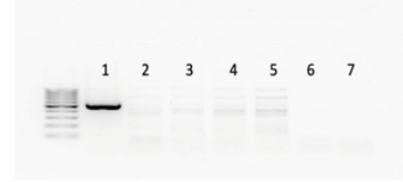
**30/04/2025**

1. Fb 34101, Sv-infected,
2. GRIN1 PBiPSCAT002-Sv4F-3 p9
3. GRIN1 PBiPSCAT002-Sv4F-11 p8
4. GRIN1 PBiPSCAT002-Sv4F-13 p7
5. GRIN1 PBiPSCAT002-Sv4F-14 p7
6. Sample NO RT
7. H2O

Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



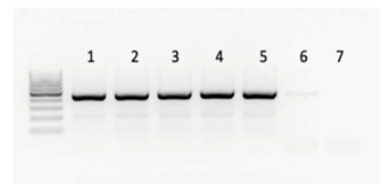
KOS (528 pb)



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**

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



En la figura se observa que las líneas GRIN1 PBiPS CAT002-Sv4F-13 es portadora de la mutación de interés en heterocigosis.

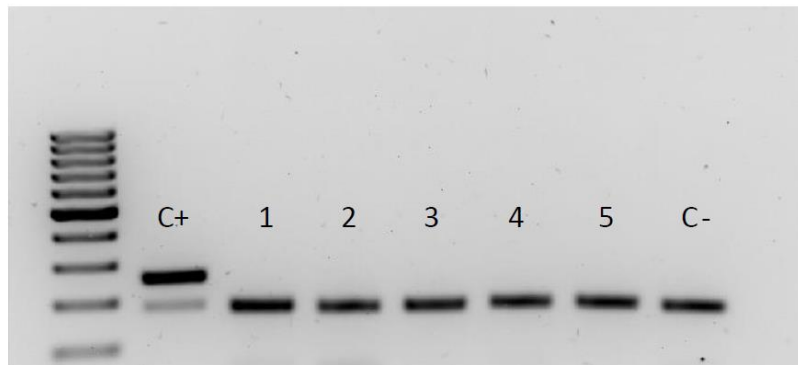


## **Anexo 7**

### **Resultado test de micoplasma**

**Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 23/07/2025**

Mycoplasma 265-278 bp  
Internal control 191 bp



1. GRIN1\_PBiPSCCAT002\_Sv4F-3 p13
2. GRIN1\_PBiPSCCAT002\_Sv4F-13 p11