



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **ATTR CM PBiPS4-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

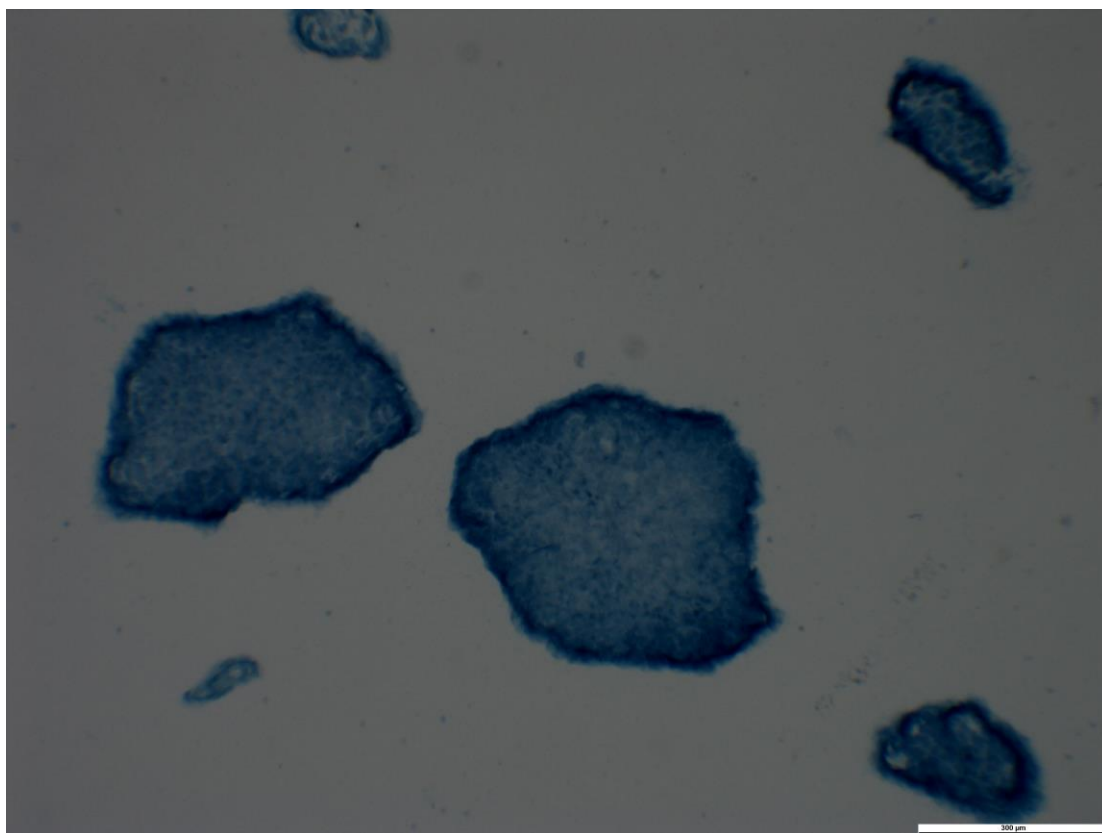
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

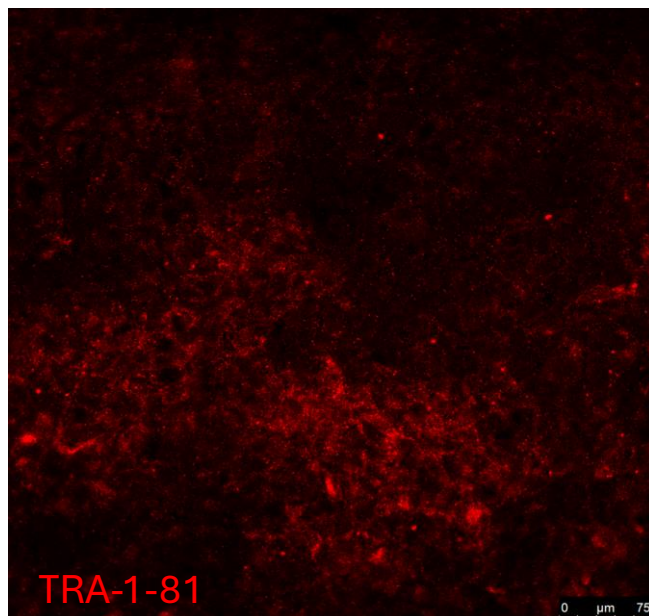
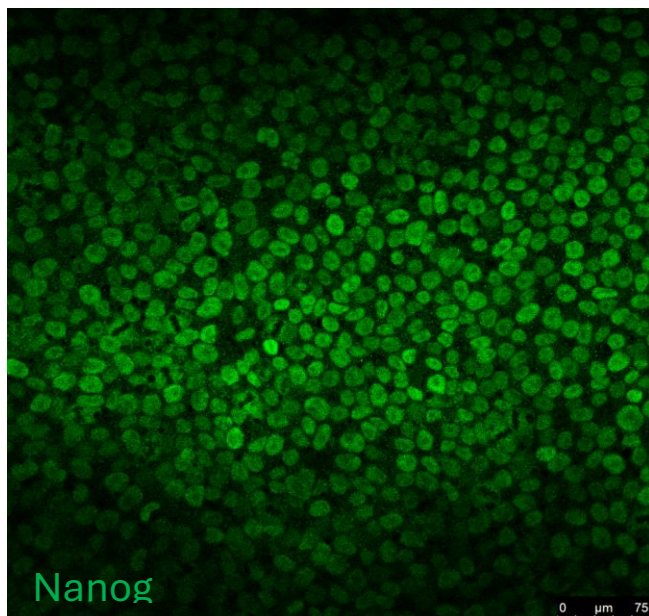


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

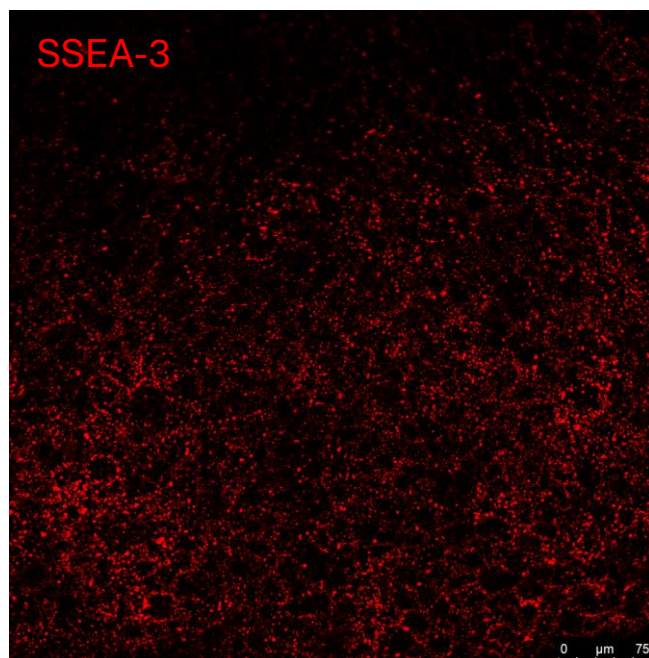
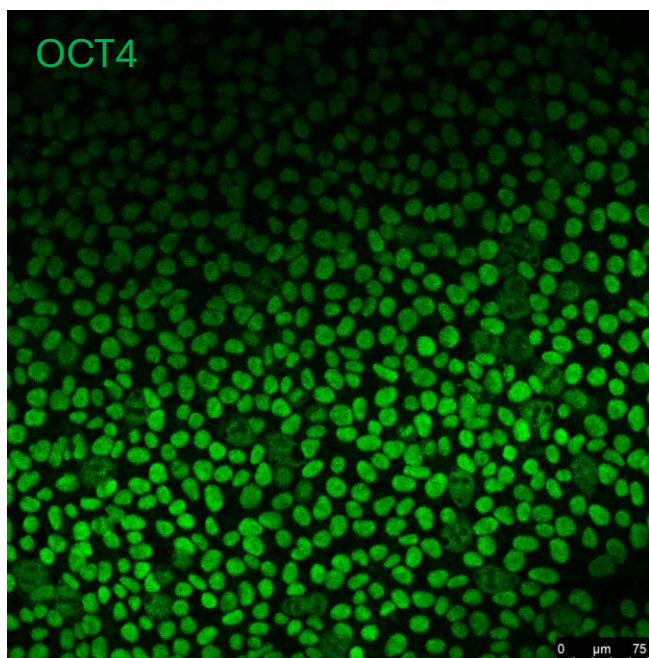


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



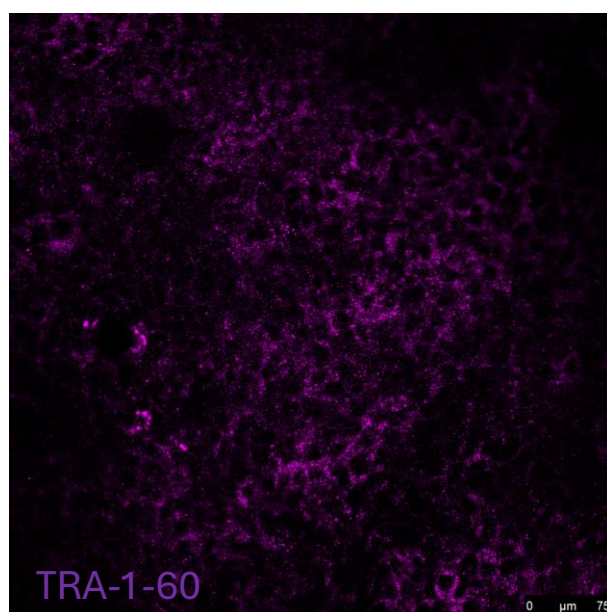
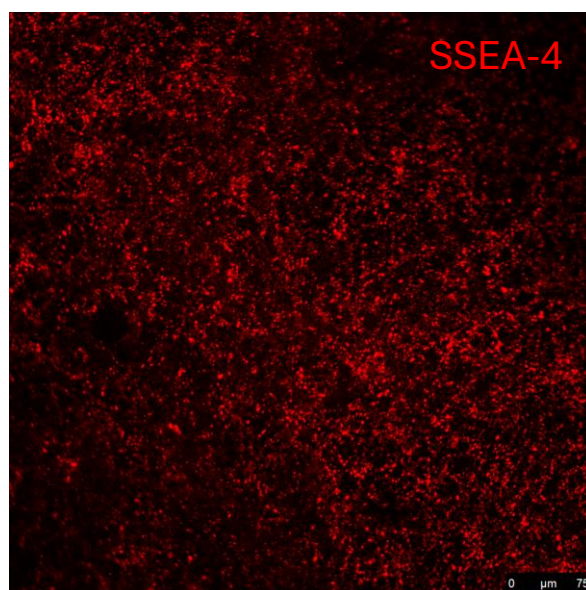
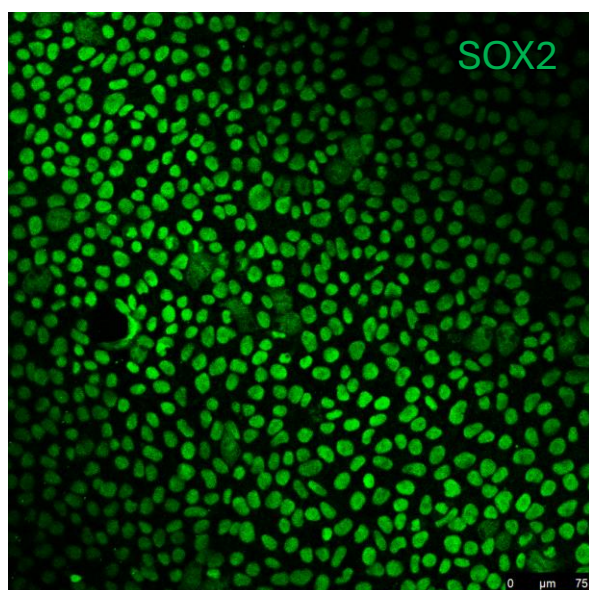
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



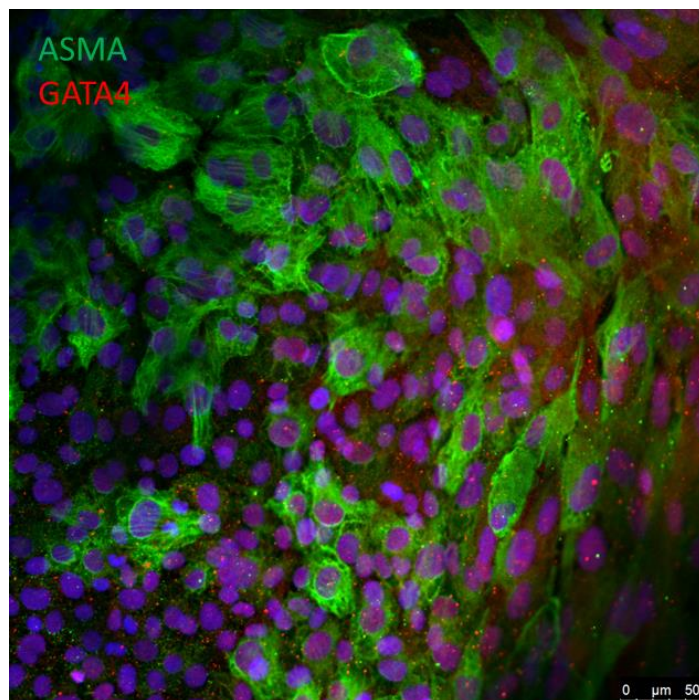
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

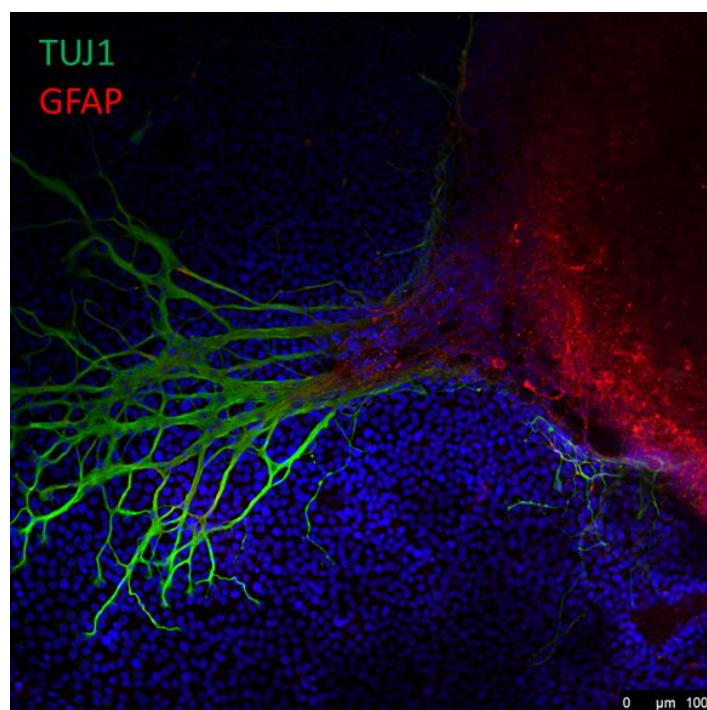


Anexo 2

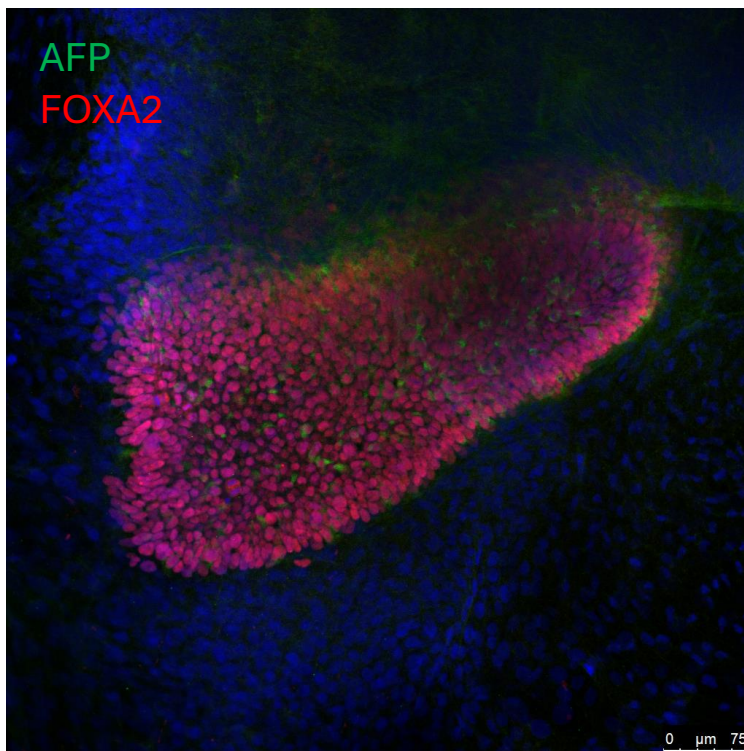
Diferenciación *in vitro*



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: 41860858

Department: IDIBELL

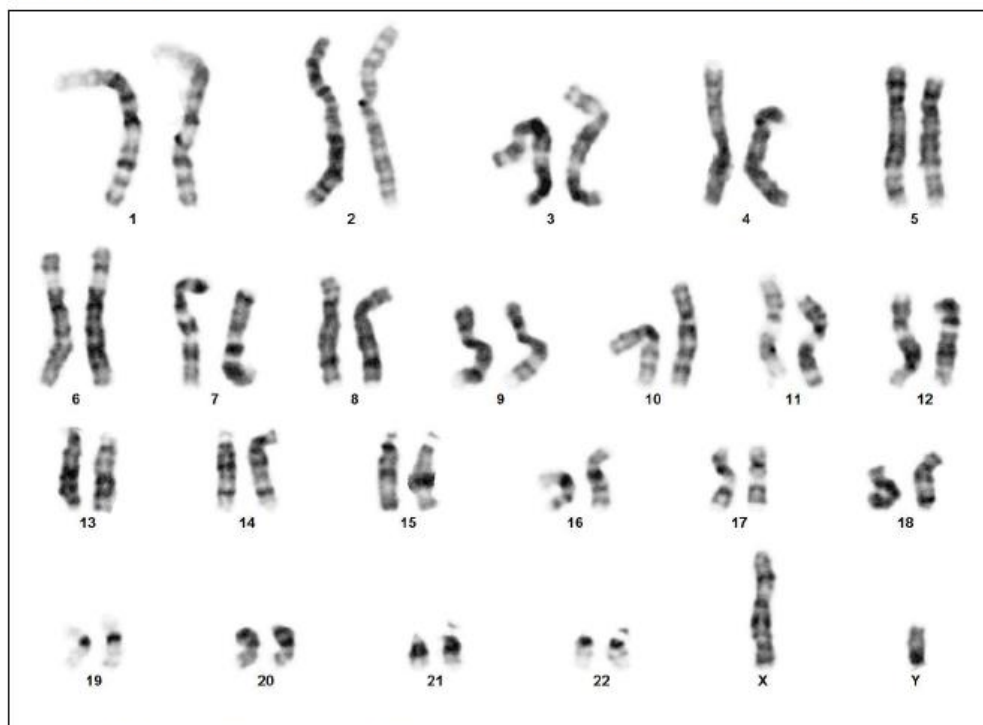
Name: ATTR CM PBiPS4-Sv4F-13 p11

Date: 7/12/2024

NHC: CT0824

Sample: CM

Unidad de disco Q



Case: 41860858 Slide: 1 Cell: 8F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
ATTR CM PBiPS4-Sv4F-13	ATTR CM PBiPS4-Sv4F-13	1335131	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 1335131	
D8S1179	8	13	14
D21S11	21q11.2-q21	26,2	30
D7S820	7q11.21-22	10	10
CSF1PO	5q33.3-34	11	11
D3S1358	3p	17	18
TH01	11p15.5	7	9,3
D13S317	13q22-31	12	12
D16S539	16q24-qter	12	12
D2S1338	2q35-37.1	17	17
D19S433	19q12-13.1	13	14
VWA	12p12-pter	16	17
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	13	18
D5S818	5q21-31	12	13
FGA	4q28	23	24
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, 12/09/2024



Dr. J.V. Martínez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació PBMCS CAR303-C2-1	ID Ambar 1335112	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® 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 1335112	
D8S1179	8	13	14
D21S11	21q11.2-q21	26,2	30
D7S820	7q11.21-22	10	10
CSF1PO	5q33.3-34	11	11
D3S1358	3p	17	18
TH01	11p15.5	7	9,3
D13S317	13q22-31	12	12
D16S539	16q24-qter	12	12
D2S1338	2q35-37.1	17	17
D19S433	19q12-13.1	13	14
VWA	12p12-pter	16	17
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	13	18
D5S818	5q21-31	12	13
FGA	4q28	23	24
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, 09/05/2024



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

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



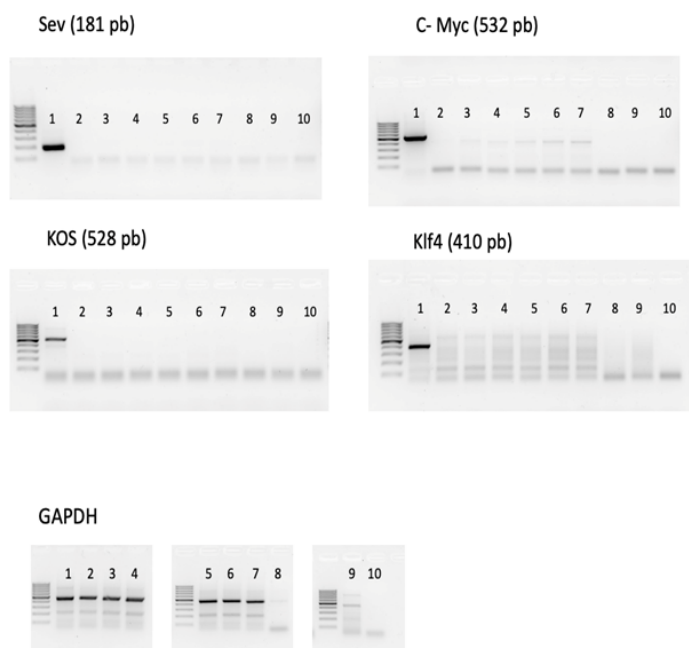
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

08/07/2024

1. POSITIVE CONTROL
2. ATTR-CM PBiPS4 Sv4F-13, p9, post39°C, 17.06.24
3. LS PBiPS-I-86 Sv4F-1, p13, 28.06.24
4. LS PBiPS-I-86 Sv4F-8, p12, 23.06.24
5. LS PBiPS-I-86 Sv4F-12, p12, 23.06.24
6. LS PBiPS-I-86 Sv4F-14, p11, 27.06.24
7. LS PBiPS-I-86 Sv4F-17, p11, 28.06.24
8. Sample NO RT
9. NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE
10. H₂O



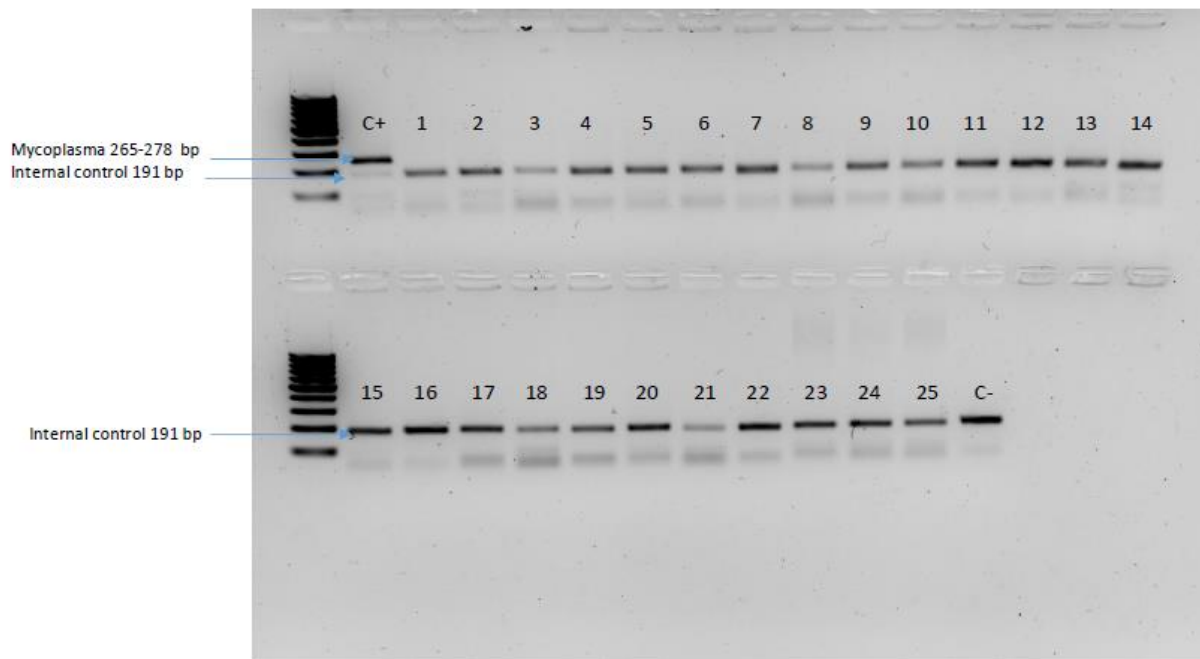
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 07/08/2024



3. BK3: ATTR-CM PBiPS4 Sv4F-13, P12, 29.07.24