



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **S PBiPS 1580-Sv4F-3** 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

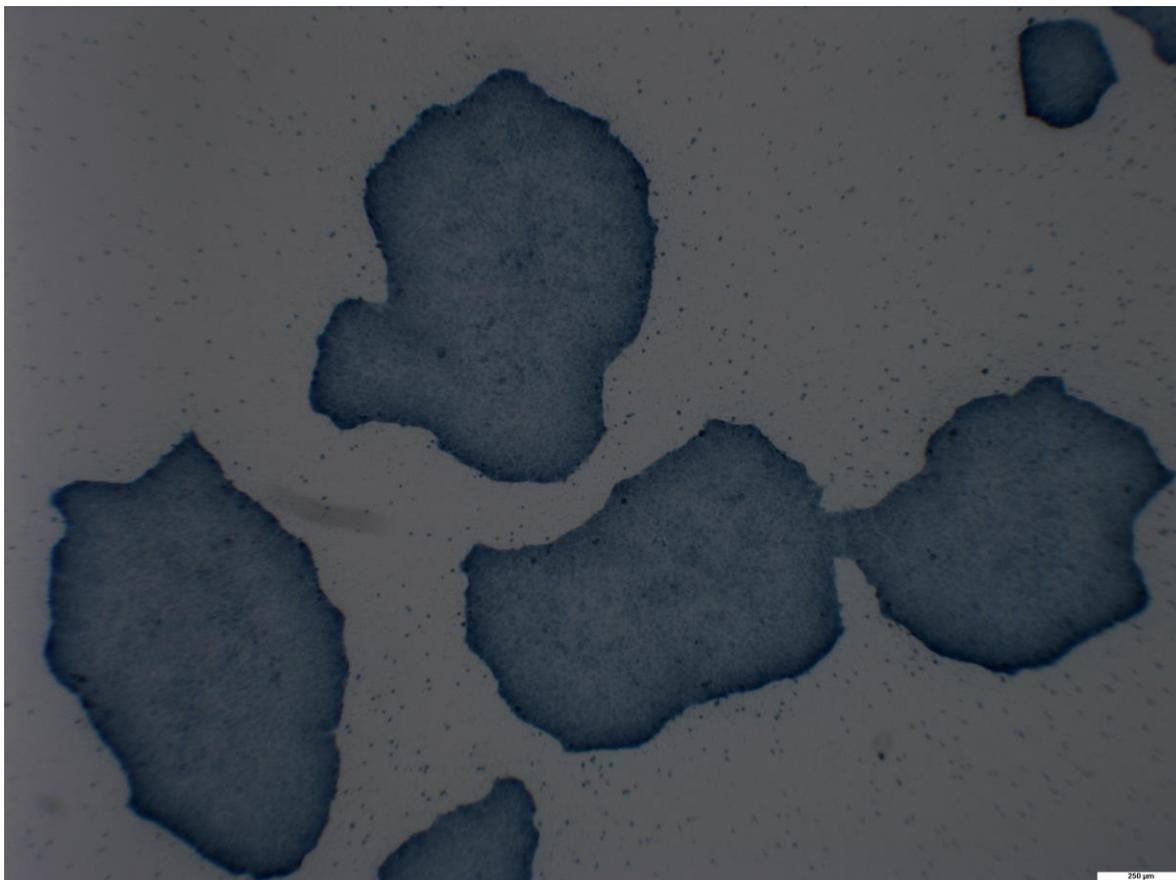
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

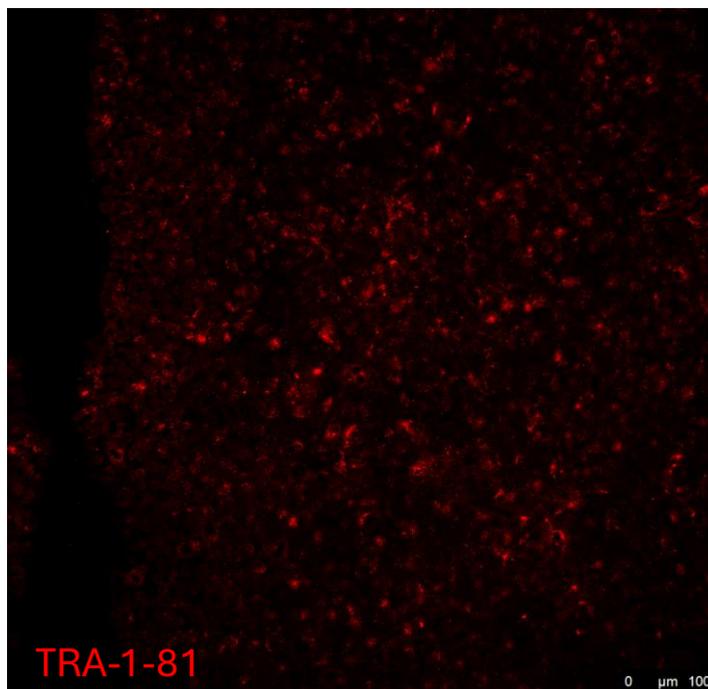
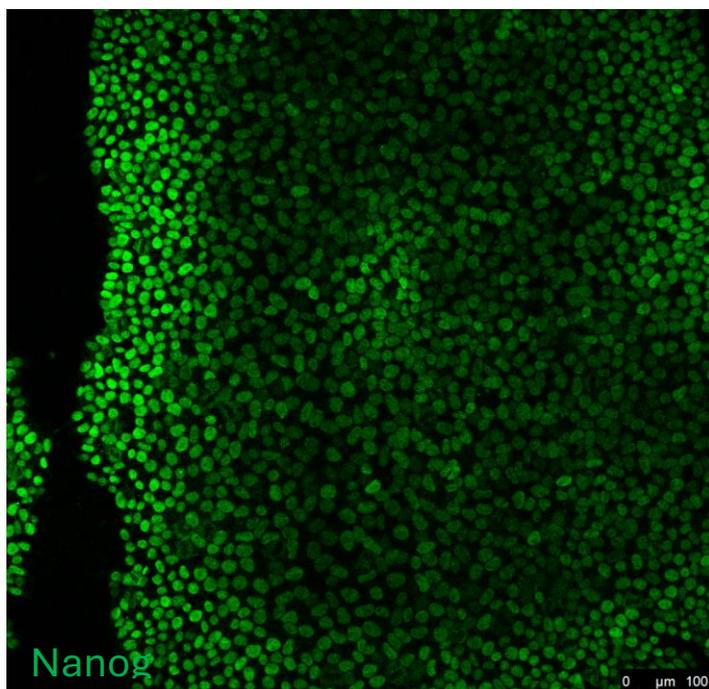


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

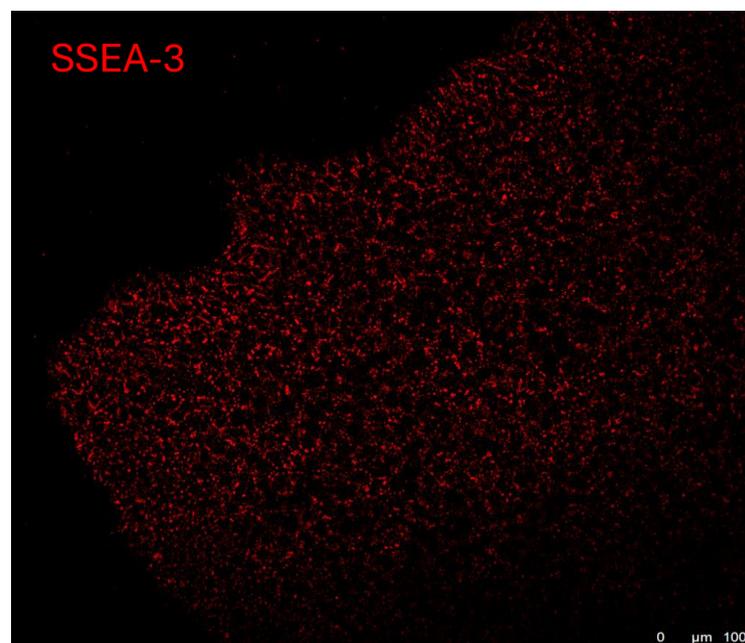
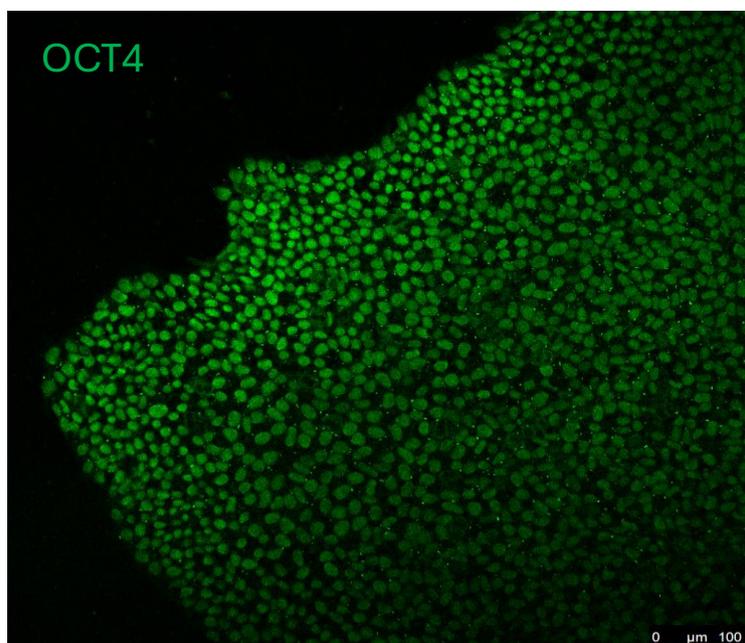


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



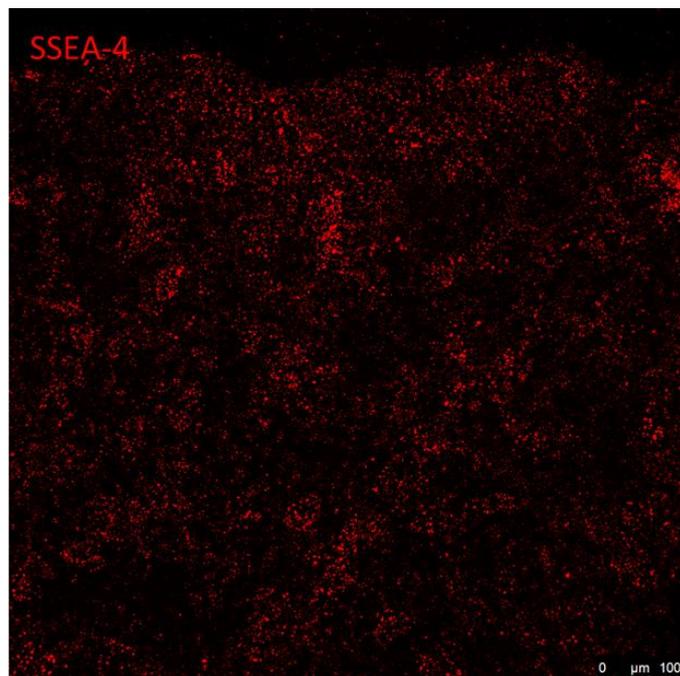
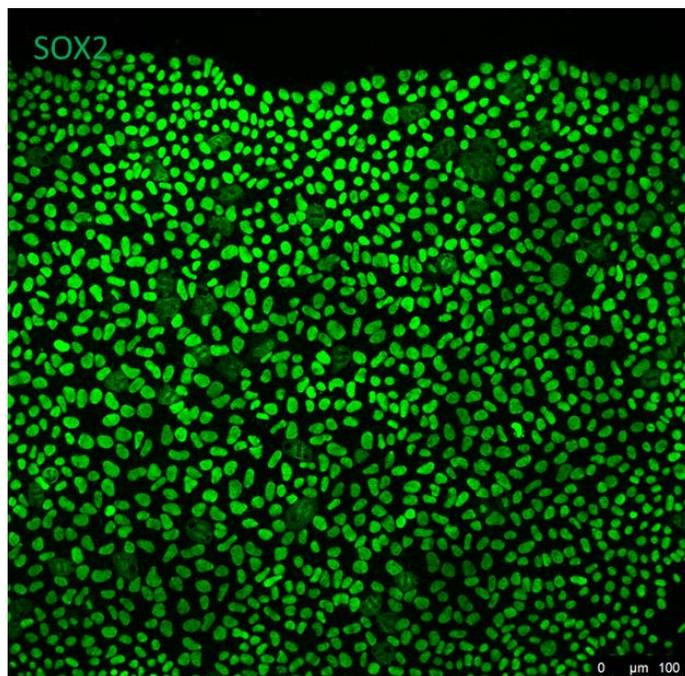
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



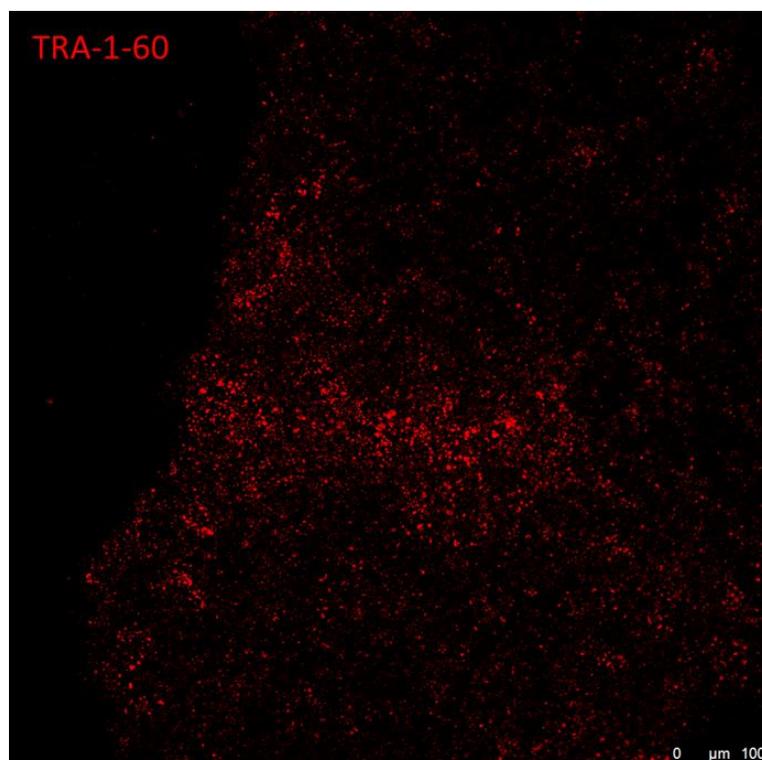
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4

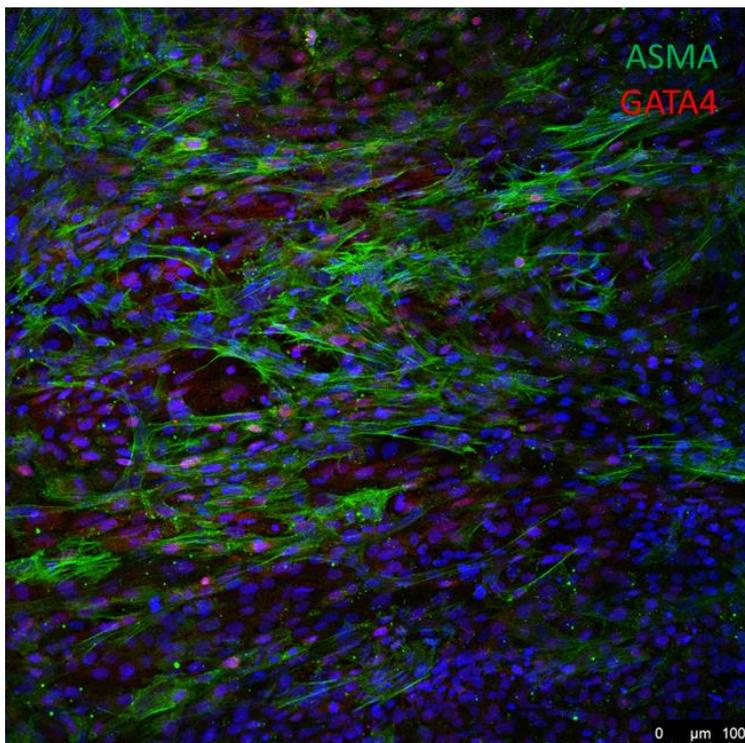


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia **TRA-1-60**

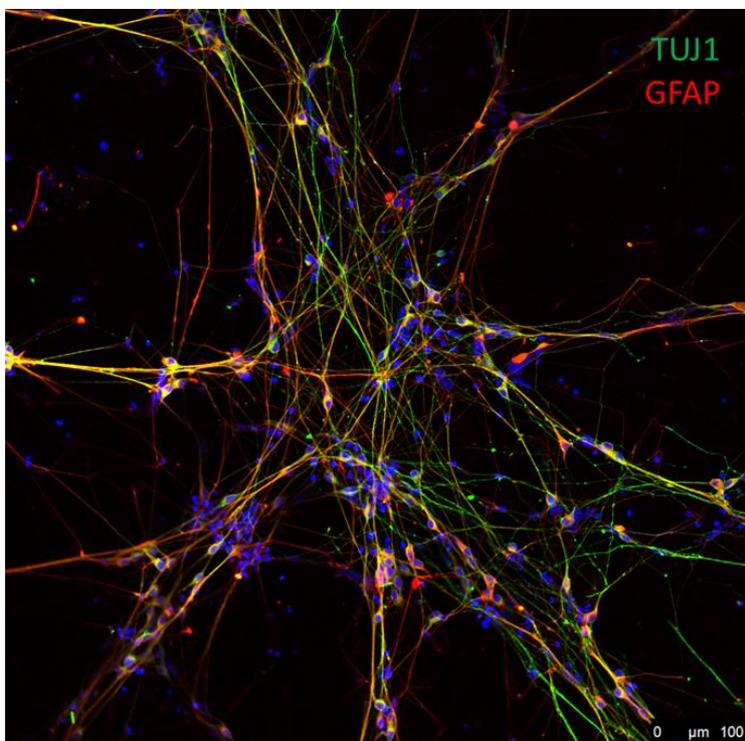


Anexo 2

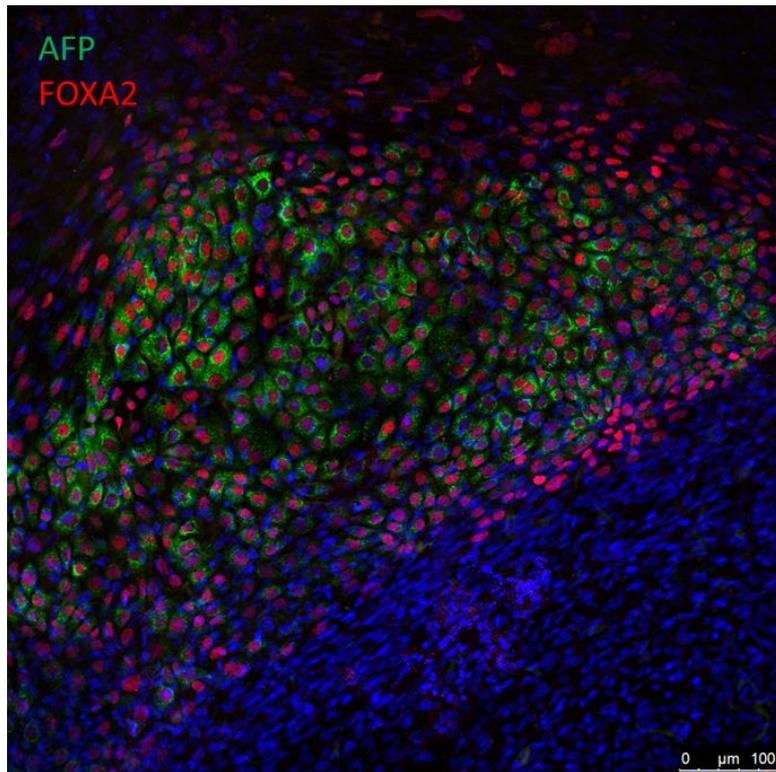
Diferenciación *in vitro*



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: 32840893

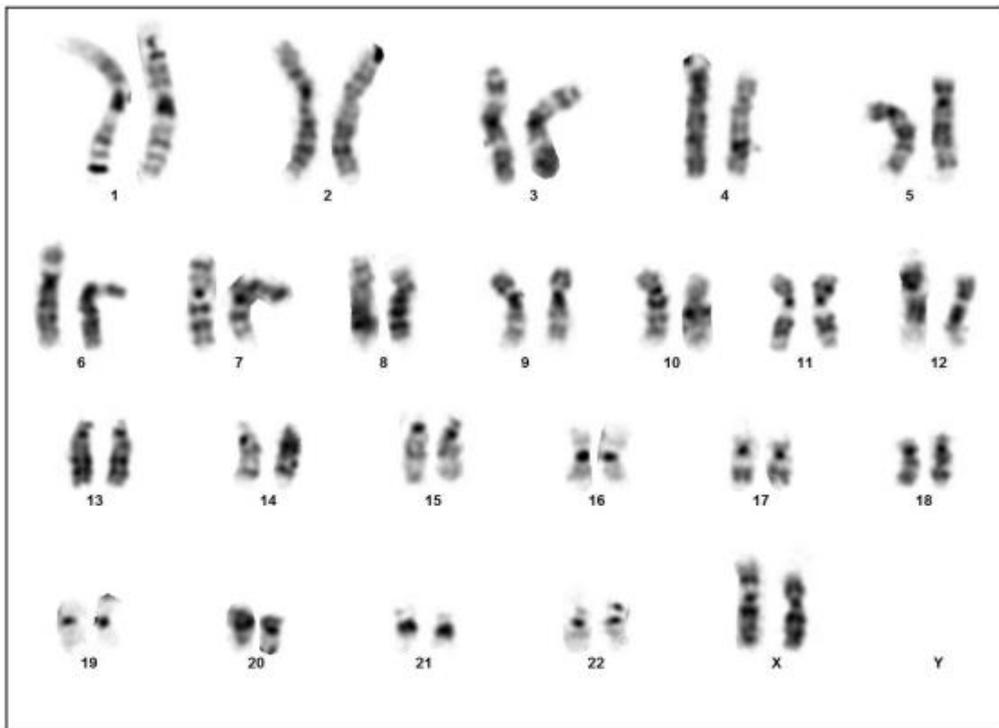
Name: S PBiPS 1580-Sv4F-3 p9

NHC: CT0674

Department: SEXT

Date: 11/2/2023

Sample: CM



Case: 32840893 Slide: 1 Cell: 1F

Result: 46,XX



Anexo 4

Resultado microsatélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
	S PBIPS1580-SV4F-3 P12	1221790	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® 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 1221790	
D8S1179	8	10	14
D21S11	21q11.2-q21	30	32.2
D7S820	7q11.21-22	9	10
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	15	16
TH01	11p15.5	9	9
D13S317	13q22-31	11	12
D16S539	16q24-qter	9	11
D2S1338	2q35-37.1	16	24
D19S433	19q12-13.1	13	15
VWA	12p12-pter	14	15
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	14	14
D5S818	5q21-31	12	13
FGA	4q28	23	24
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, 29/11/2023



ESTUDI DE MICROSATÈL-LITS (STRs)

Mostra: **Identificació** PB MB1580-M004, 06.07.23 (1580-4) **ID Ambar** 1451675 **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 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 1451675	
D8S1179	8	10	14
D21S11	21q11.2-q21	30	32.2
D7S820	7q11.21-22	9	10
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	15	16
TH01	11p15.5	9	9
D13S317	13q22-31	11	12
D16S539	16q24-qter	9	11
D2S1338	2q35-37.1	16	24
D19S433	19q12-13.1	13	15
VWA	12p12-pter	14	15
TPOX	2p23-2per	8	11
D18S51	18q21.3	14	14
D5S818	5q21-31	12	13
FGA	4q28	23	24
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, 06/02/2024



Anàlisi de microsatèl·lites en la línia de hiPSC y en las células de sangre periférica de las que procede.



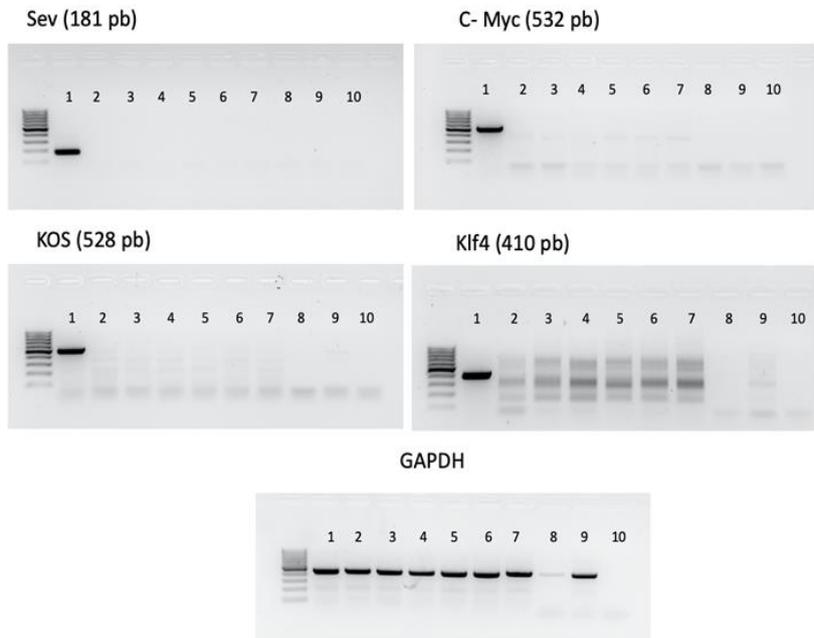
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

22/09/23

1. POSITIVE CONTROL
2. S_PBiPSP1580_Sv4F-1 p8
3. S_PBiPSP1580_Sv4F-3 p7
4. S_PBiPSP1580_Sv4F-7 p6
5. S_PBiPSP1786_Sv4F-12 p7
6. S_PBiPSP1786_Sv4F-14 p6
7. S_PBiPSP1786_Sv4F-15 p7
8. Sample NO RT
9. NEGATIVE CONTROL
10. H2O



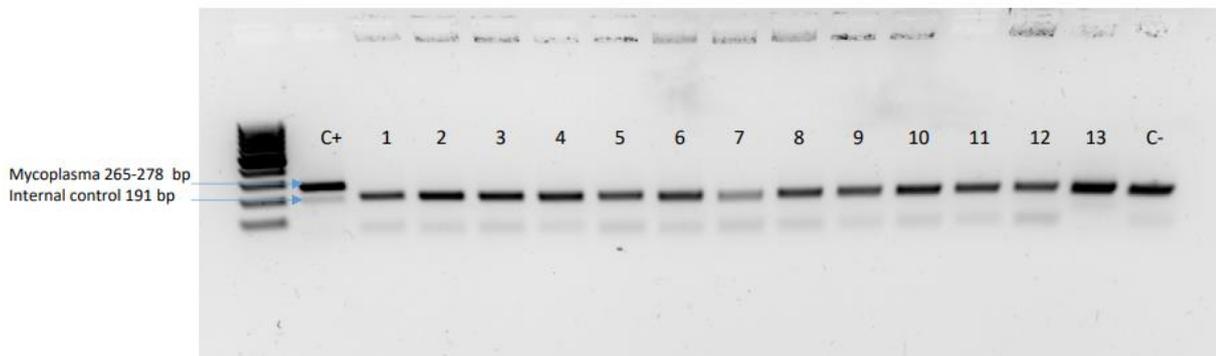
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 15/11/2023



12: S PBiPS 1580-Sv4F-3 p10