



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **S PBiPS 121-Sv4F-2** 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

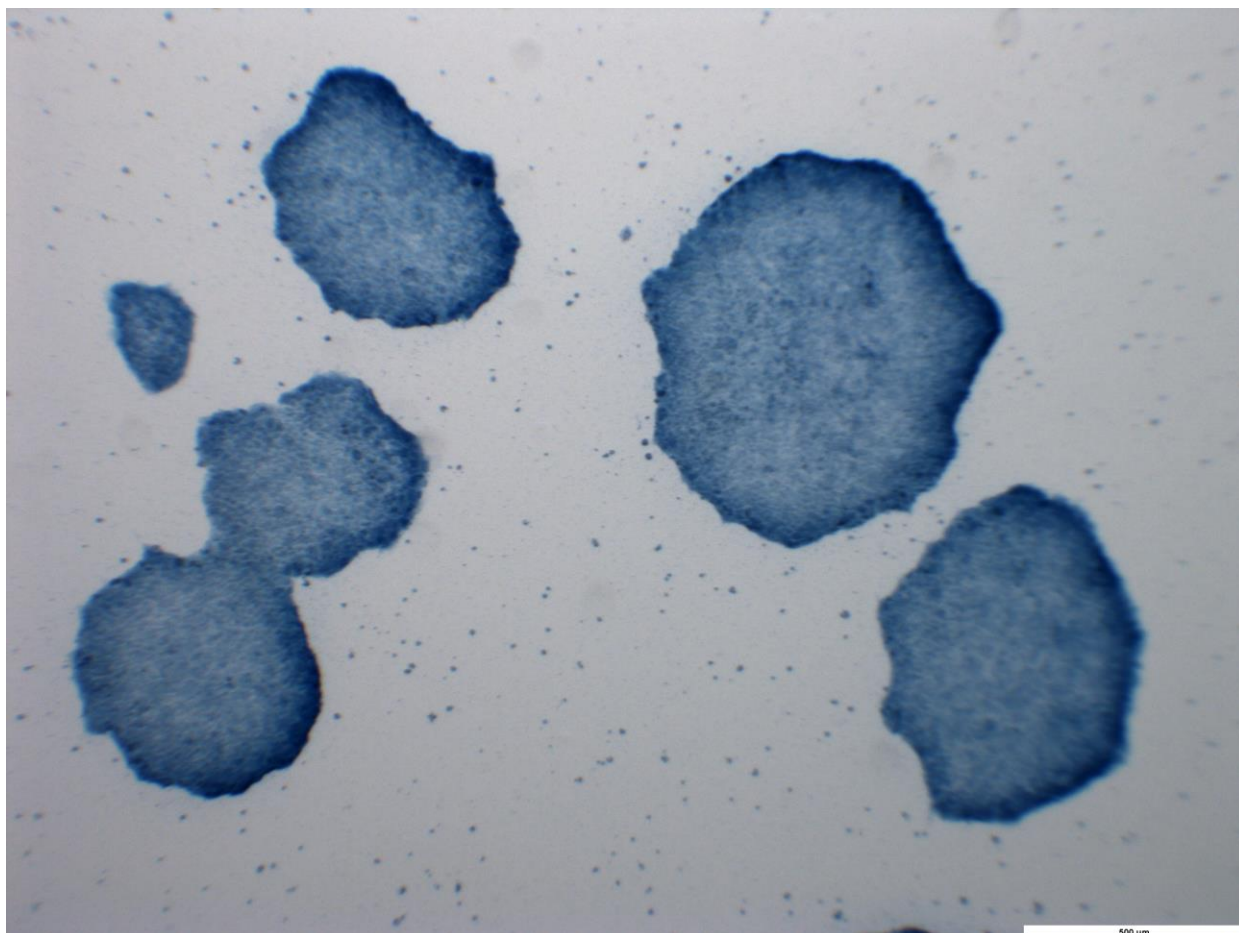
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

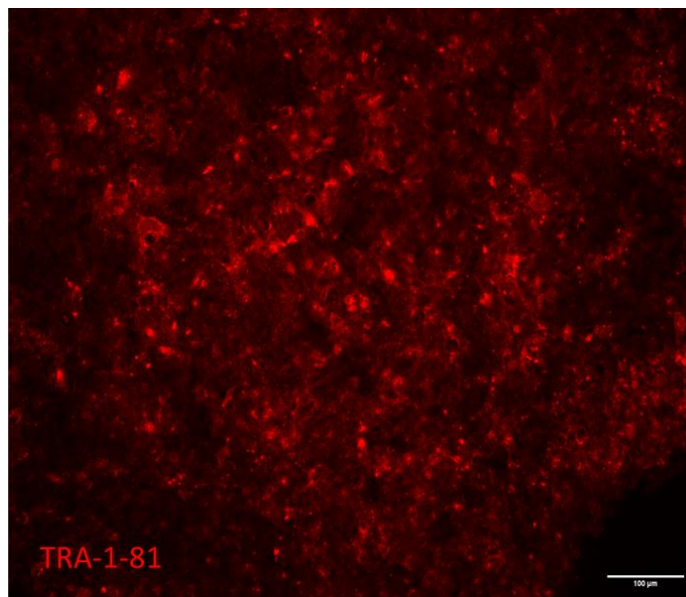
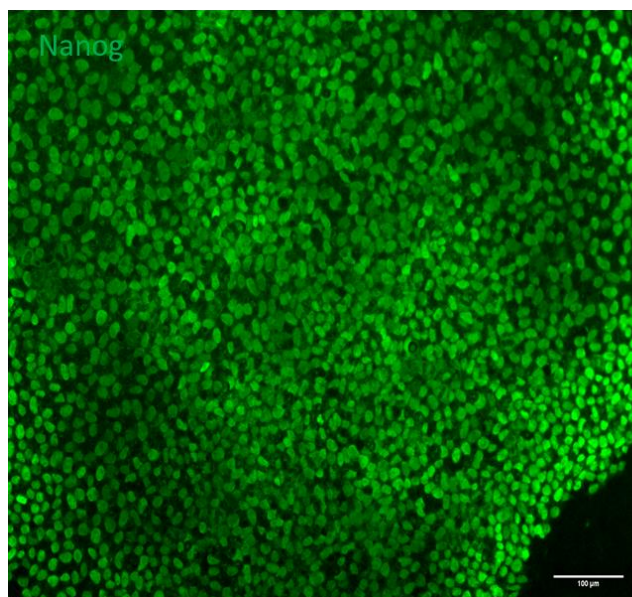


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

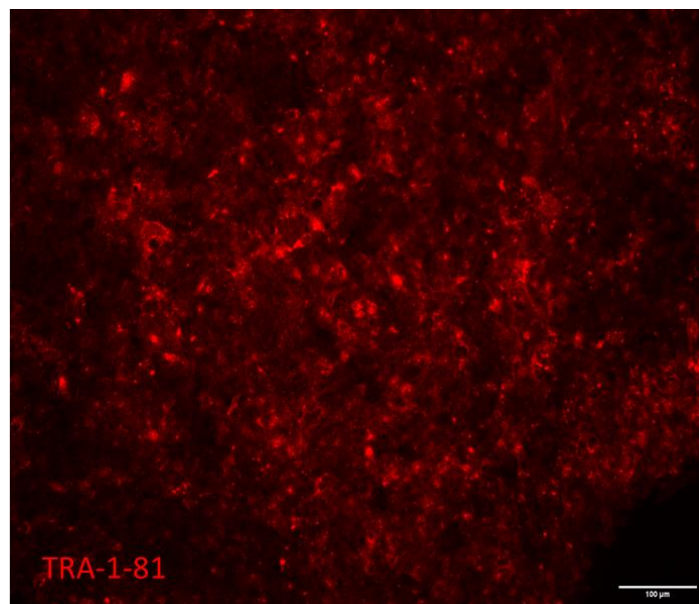
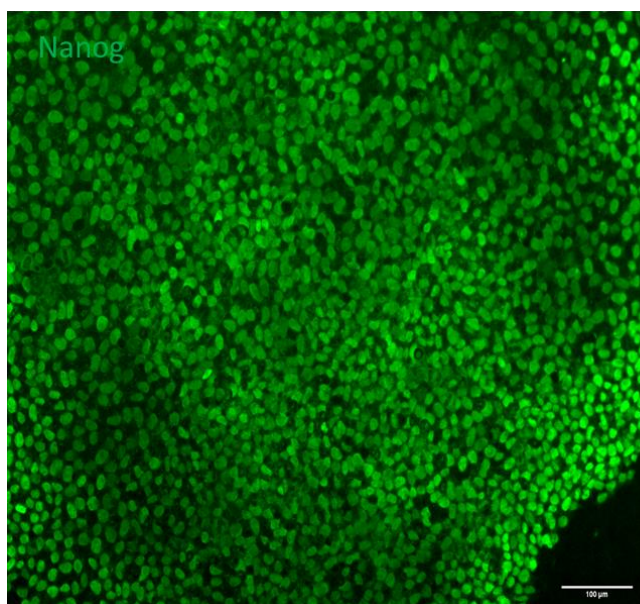


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



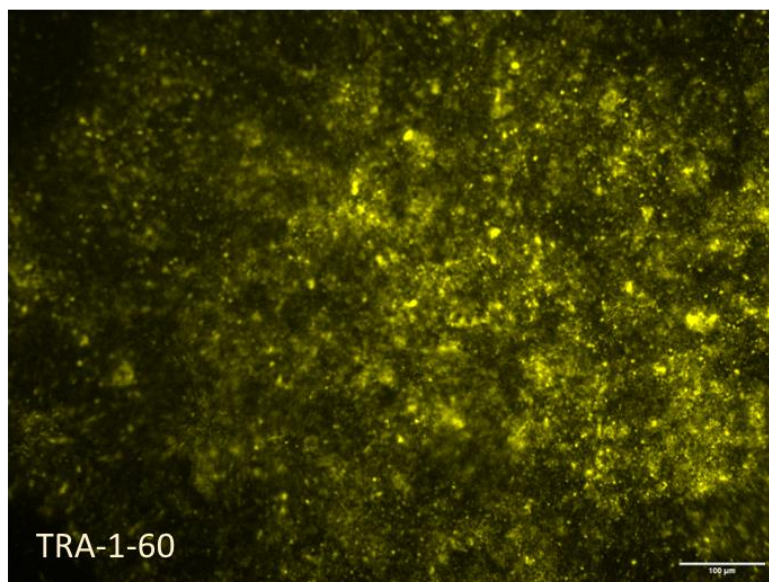
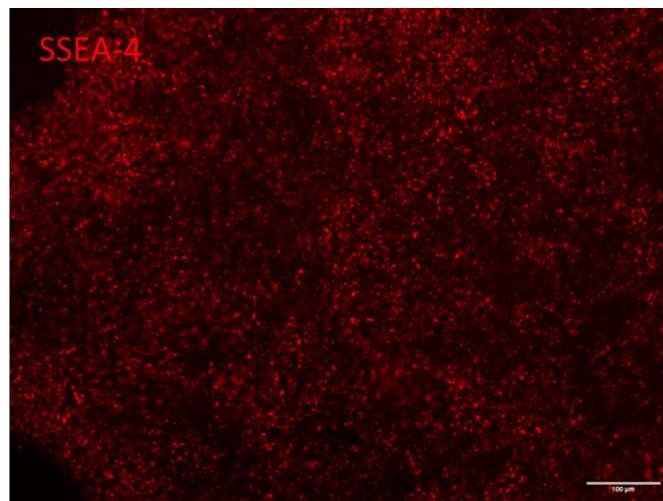
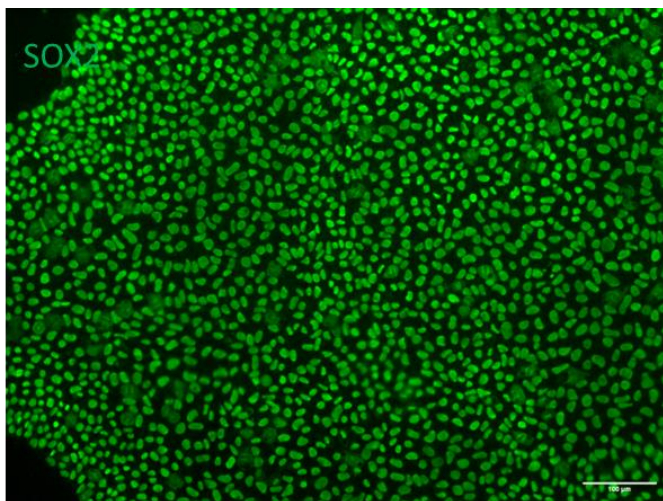
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3

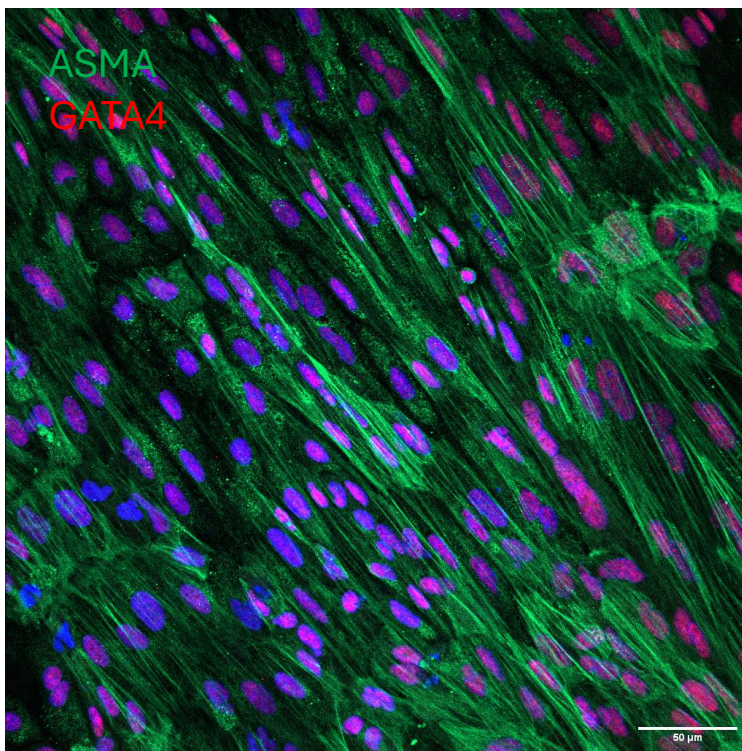


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

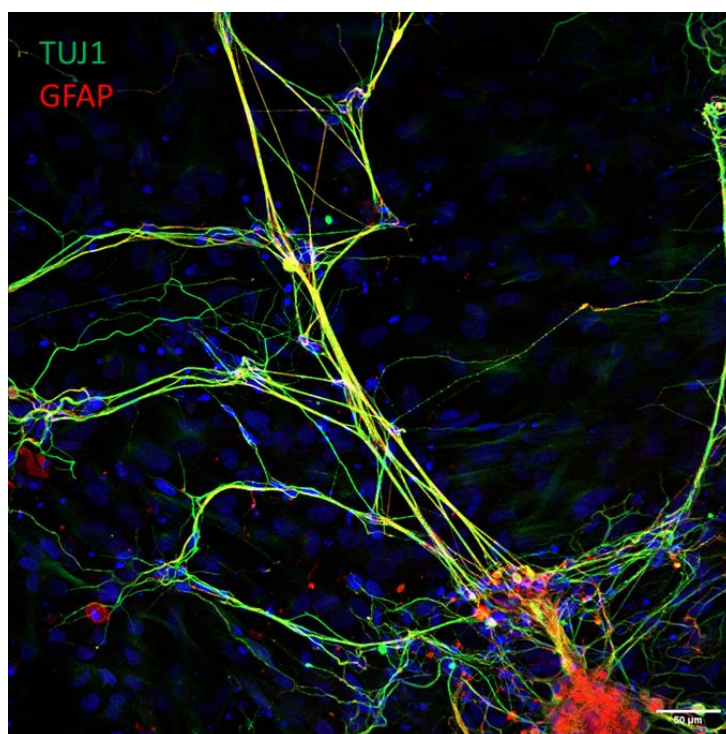


Anexo 2

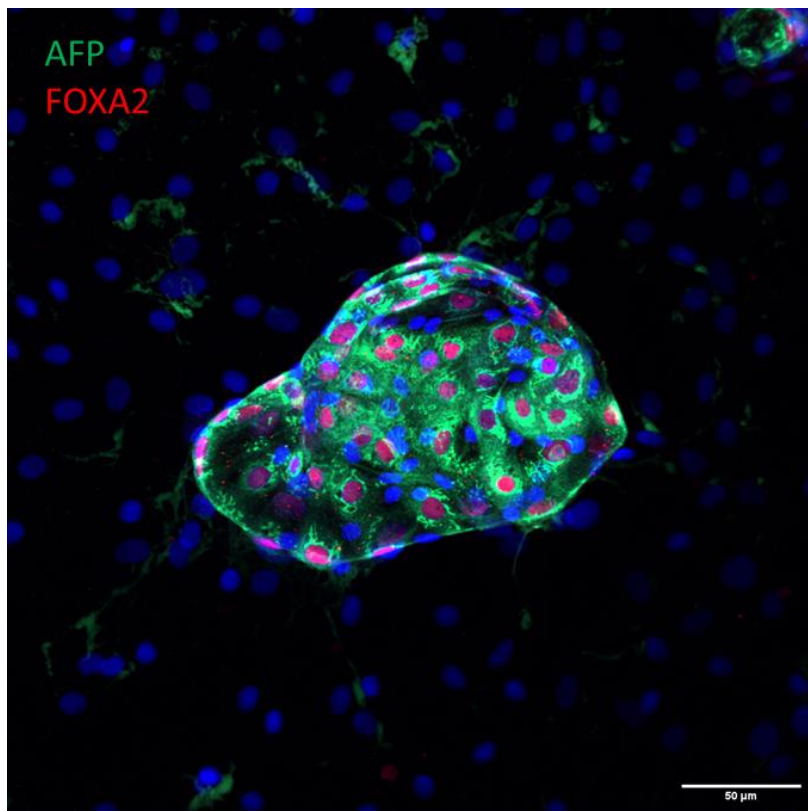
Diferenciación *in vitro*



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: 52200479

Name: S PBiPS 121-Sv4F-2 p9

Sample: CM

NHC: CT1152

Date: 8/21/2025



Case: 52200479 Slide: 2 Cell: 10f

Result: 46,XX



Anexo 4

Resultado microsátélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

<u>Mostra:</u>	<u>Identificació</u>	<u>ID Mostra</u>	<u>Tipus de mostra</u>
	S PBiPS121-Sv4F-2 p11	68046329	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 24 regions de DNA (STR- short tandem repeats) amb el Kit de Genotipat *GlobalFiler™ PCR Amplification Kit*. La combinació d'aquestes 24 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

Locus estudiats	Localització cromossòmica	Al·lels mostra
D3S1358	3p21.31	17 – 18
vWA	12p13.31	17
D16S539	16q24.1	9 – 13
CSF1PO	5q33.3-34	10
TPOX	2p23-2per	8
D8S1179	8q24.13	10
D21S11	21q11.2-q21	29 – 30
D18S51	18q21.33	14
D2S441	2p14	11 – 14
D19S433	19q12	12 – 16.2
TH01	11p15.5	6 – 9.3
FGA	4q28	21 – 24
D22S1045	22q12.3	15 – 16
D5S818	5q21-31	11
D13S317	13q22-31	9 – 11
D7S820	7q11.21-22	9 – 10
SE33	6q14	14 – 15
D10S1248	10q26.3	16
D1S1656	1q42.2	16 – 17.3
D12S391	12p13.2	17 – 21
D2S1338	2q35	19 – 23
Y indel	Yq11.221	-
DYS391	Yq11.21	-
Amelogenina	X: p22.1-22.3 Y: p11.2	XX

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra: Identificació PERIPHERAL BLOOD 121 ID Ambar 68046306 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 68046306	
D8S1179	8	10	10
D21S11	21q11.2-q21	29	30
D7S820	7q11.21-22	9	10
CSF1PO	5q33.3-34	10	10
D3S1358	3p	17	18
TH01	11p15.5	6	9,3
D13S317	13q22-31	9	11
D16S539	16q24-qter	9	13
D2S1338	2q35-37.1	19	23
D19S433	19q12-13.1	12	16,2
VWA	12p12-pter	17	17
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	14	14
D5S818	5q21-31	11	11
FGA	4q28	21	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, 04/06/2025



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

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



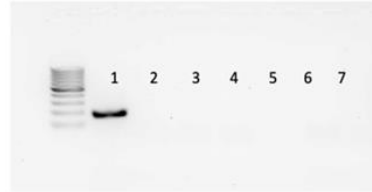
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0
24/07/2025

1. Fb 34101, Sv-infected
2. S PBiPS121 Sv4F-1, p10
3. S PBiPS121 Sv4F-2, p7
4. S PBiPS121 Sv4F-3, p8
5. S PBiPS121 Sv4F-4, p9
6. Sample NO RT
7. H2O

Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



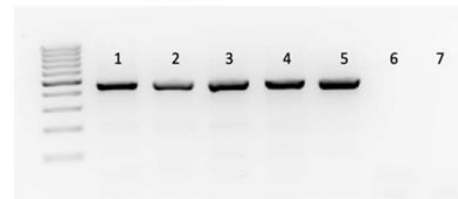
KOS (528 pb)



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

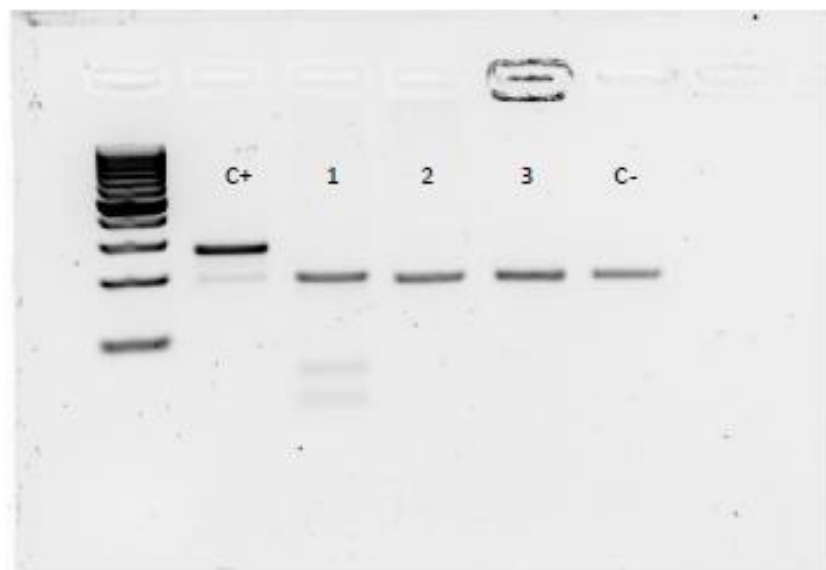


Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 08/10/2025

Mycoplasma 265-278 bp
Internal control 191 bp



Raya's 2025-10-08 15h23m45s(SYBRÂ® Safe)

1. S_PBiPS121_Sv4F-2 p11
2. S_PBiPS191_Sv4F-6 p10