



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **S PBiPS191-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

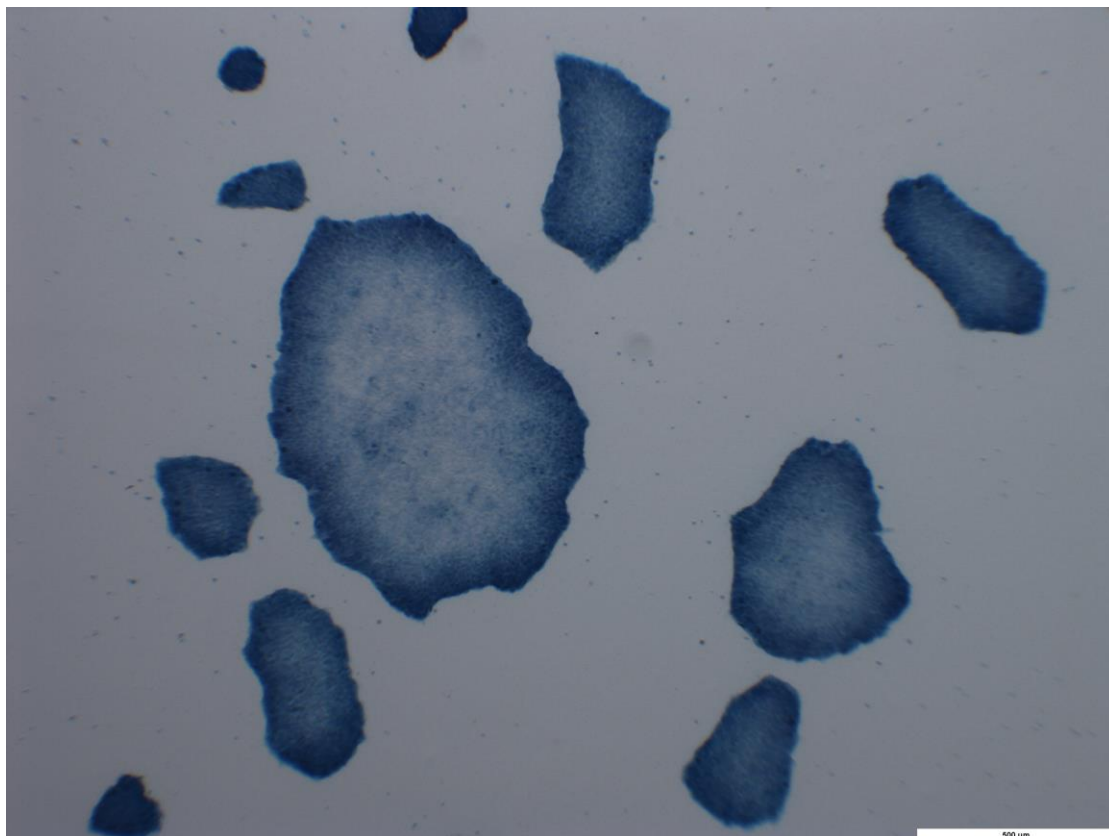
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

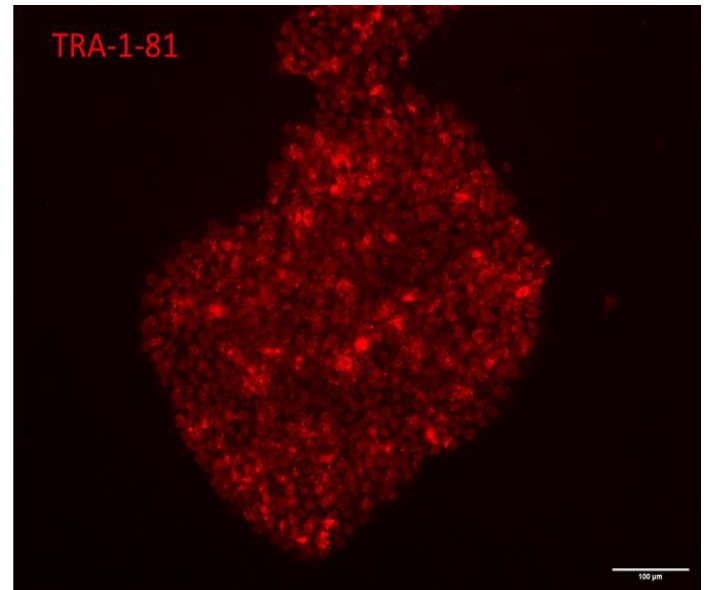
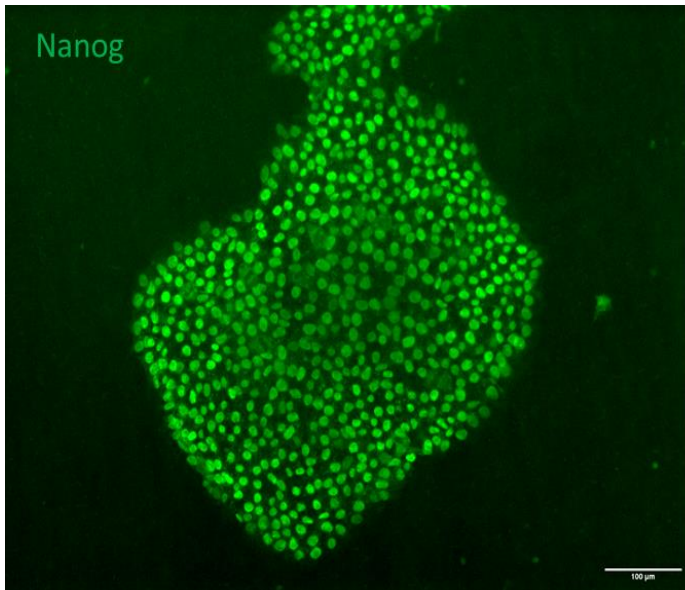


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

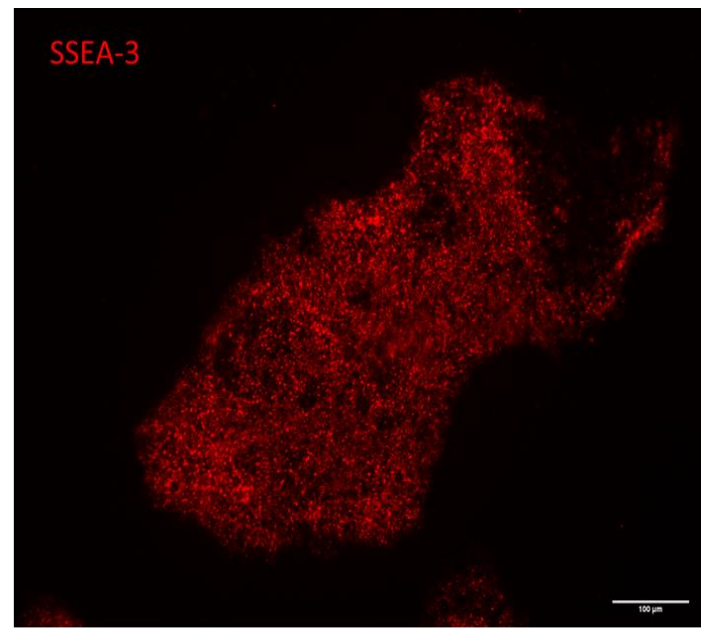
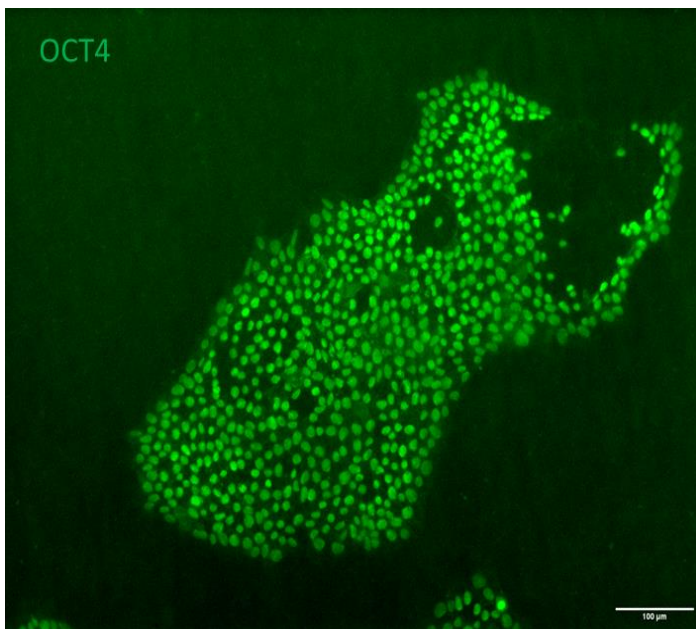


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



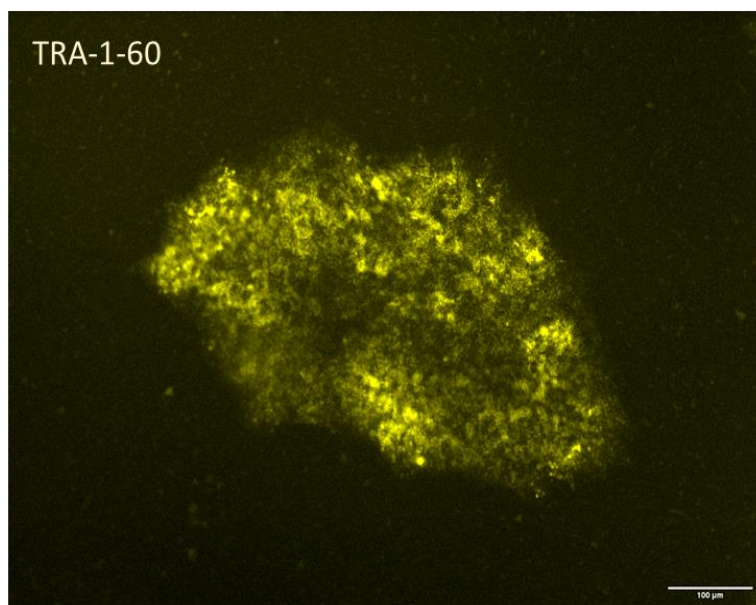
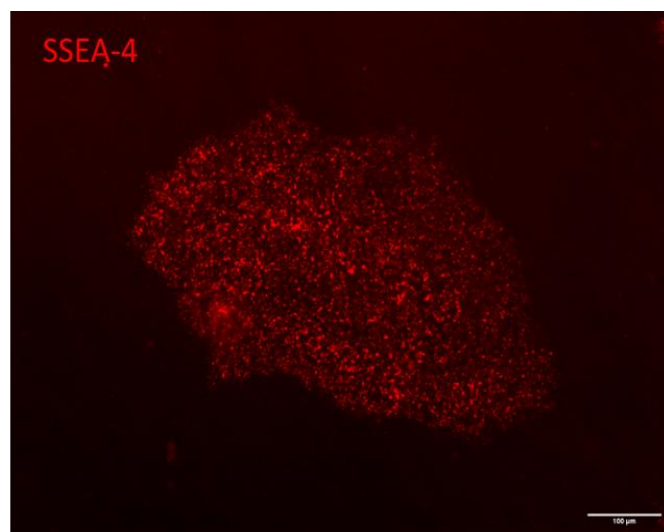
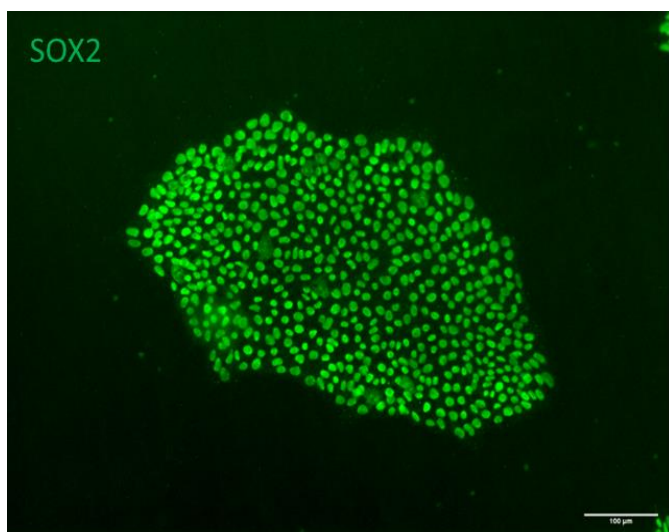
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



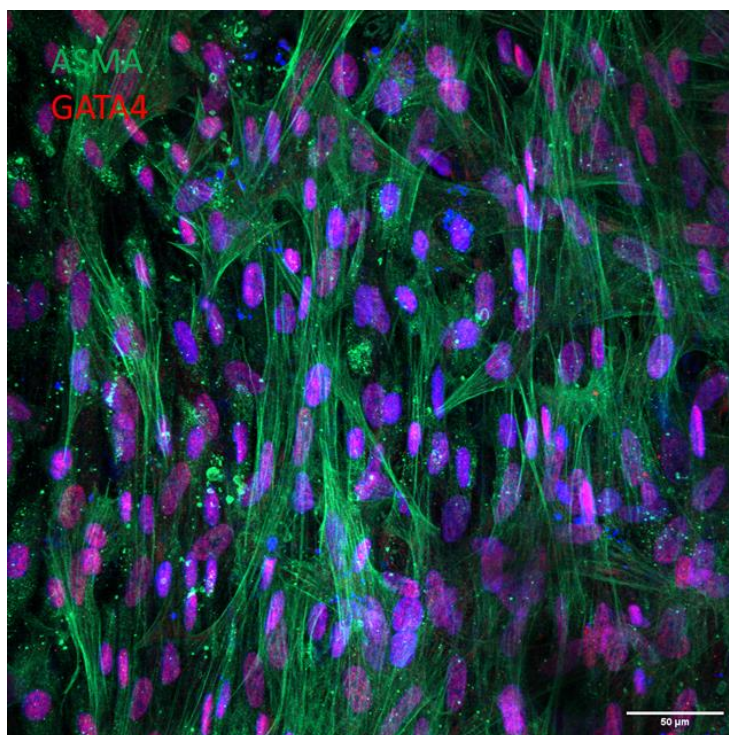
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

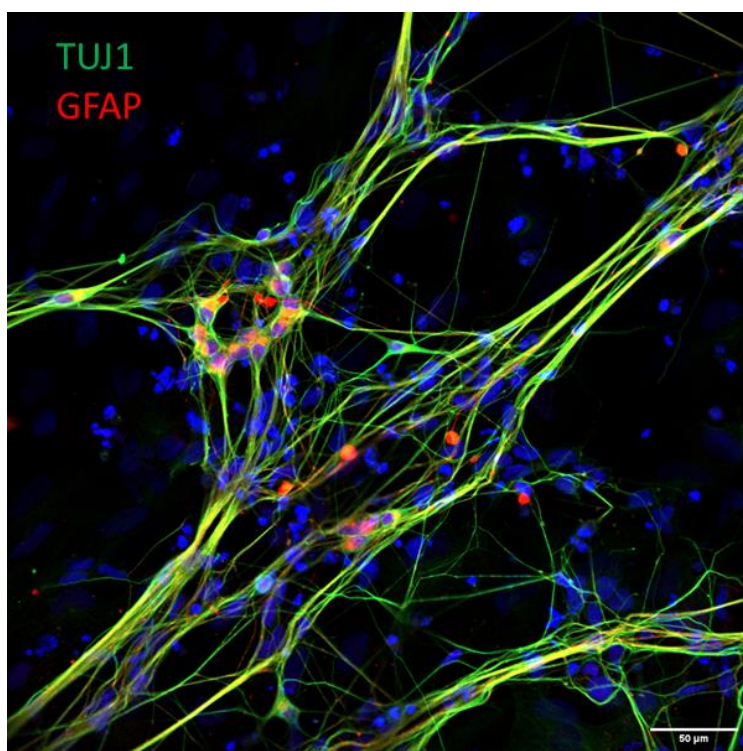


Anexo 2

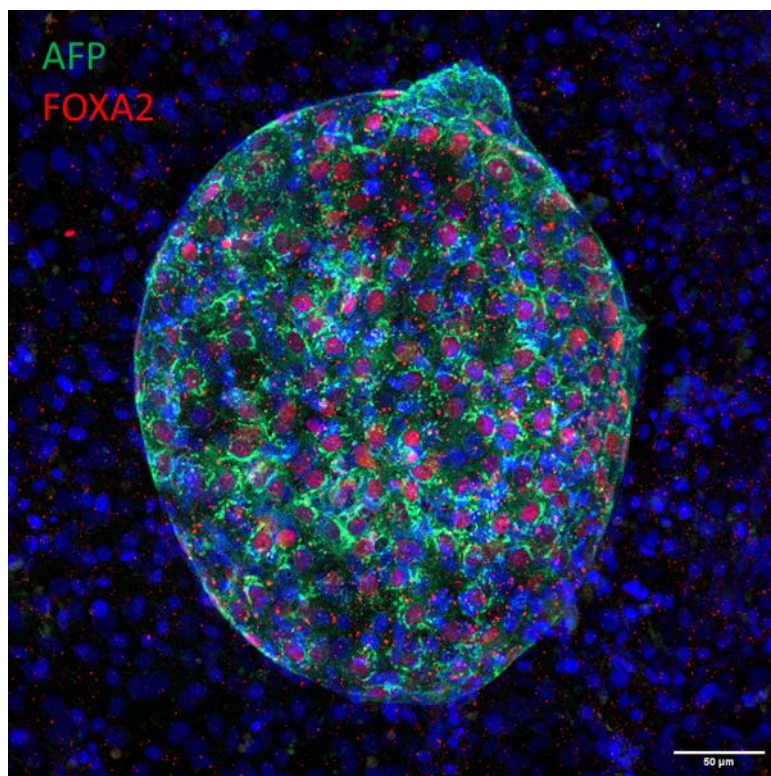
Diferenciación *in vitro*



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**



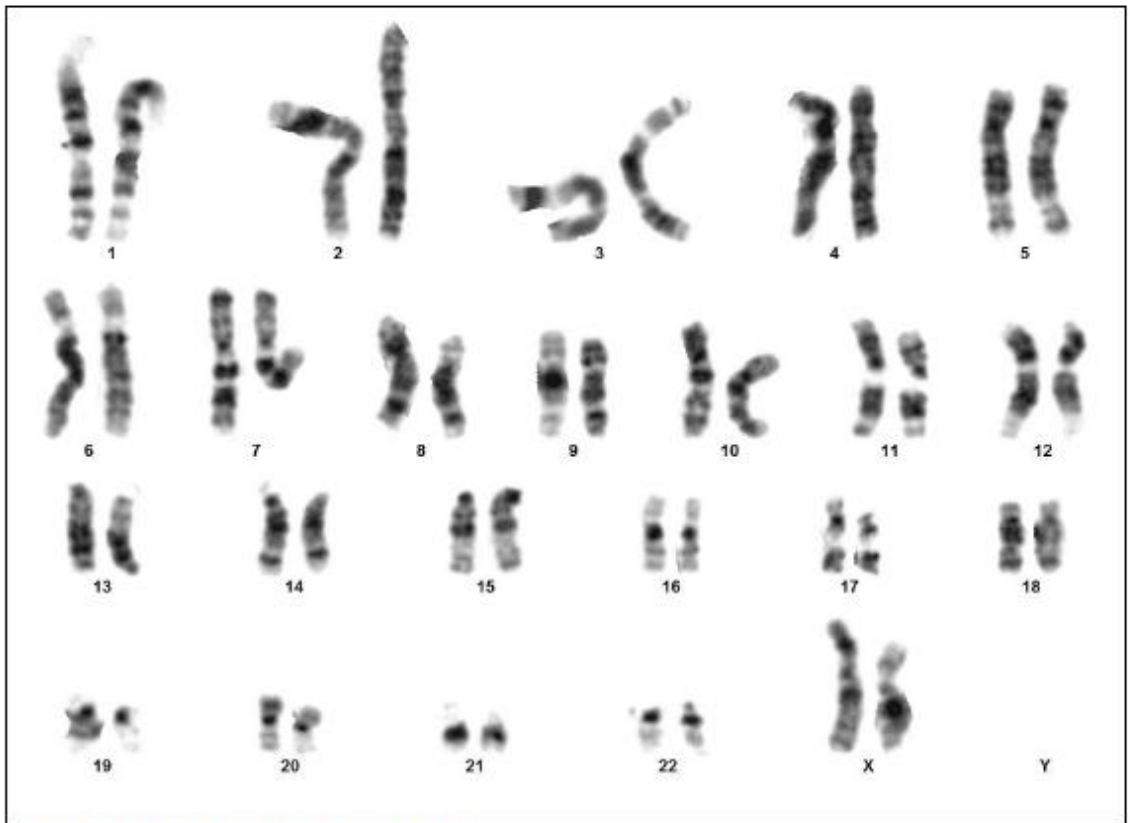
Anexo 3

Cariotipo

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 52340557
Name: S PBiPS 191-Sv4F-6 p9
NHC: CT1164

Sample: CM
Date: 9/3/2025



Case: 52340557 Slide: 3 Cell: 5F

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 PBiPS191-Sv4F-6	68046330	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	15 – 18
vWA	12p13.31	14 – 19
D16S539	16q24.1	11 – 13
CSF1PO	5q33.3-34	10 – 14
TPOX	2p23-2per	9 – 11
D8S1179	8q24.13	13
D21S11	21q11.2-q21	28 – 31.2
D18S51	18q21.33	14 – 17
D2S441	2p14	10 – 11
D19S433	19q12	13 – 15
TH01	11p15.5	9.3
FGA	4q28	19 – 21
D22S1045	22q12.3	15 – 16
D5S818	5q21-31	11
D13S317	13q22-31	8 – 10
D7S820	7q11.21-22	10 – 11
SE33	6q14	17 – 21.2
D10S1248	10q26.3	13 – 15
D1S1656	1q42.2	16 – 18.3
D12S391	12p13.2	18 – 22
D2S1338	2q35	20
Y indel	Yq11.221	-
DYS391	Yq11.21	-
Amelogenina	X: p22.1-22.3 Y: p11.2	XX

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra: **Identificació** **ID Ambar** **Tipus de mostra**
 PERIPHERAL BLOOD 191 68046308 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 68046308	
D8S1179	8	13	13
D21S11	21q11.2-q21	28	31,2
D7S820	7q11.21-22	10	11
CSF1PO	5q33.3-34	10	14
D3S1358	3p	15	18
TH01	11p15.5	9,3	9,3
D13S317	13q22-31	8	10
D16S539	16q24-qter	11	13
D2S1338	2q35-37.1	20	20
D19S433	19q12-13.1	13	15
VWA	12p12-pter	14	19
TPOX	2p23-2per	9	11
D18S51	18q21.3	14	17
D5S818	5q21-31	11	11
FGA	4q28	19	21
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

31/07/2025

1. Fb 34101, Sv-infected
2. S PBiPS191-Sv4F-6 p7
3. S PBiPS191-Sv4F-9 p6
4. S PBiPS191-Sv4F-10 p6
5. S PBiPS191-Sv4F-11 p7
6. Sample NO RT
7. H2O

Sev (181 pb)



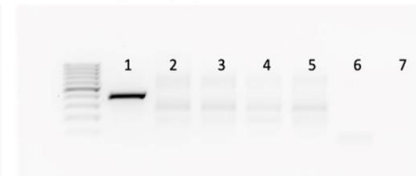
C- Myc (532 pb)



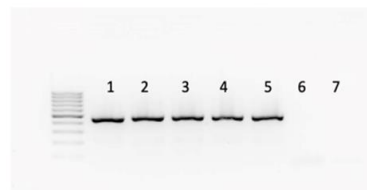
KOS (528 pb)



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

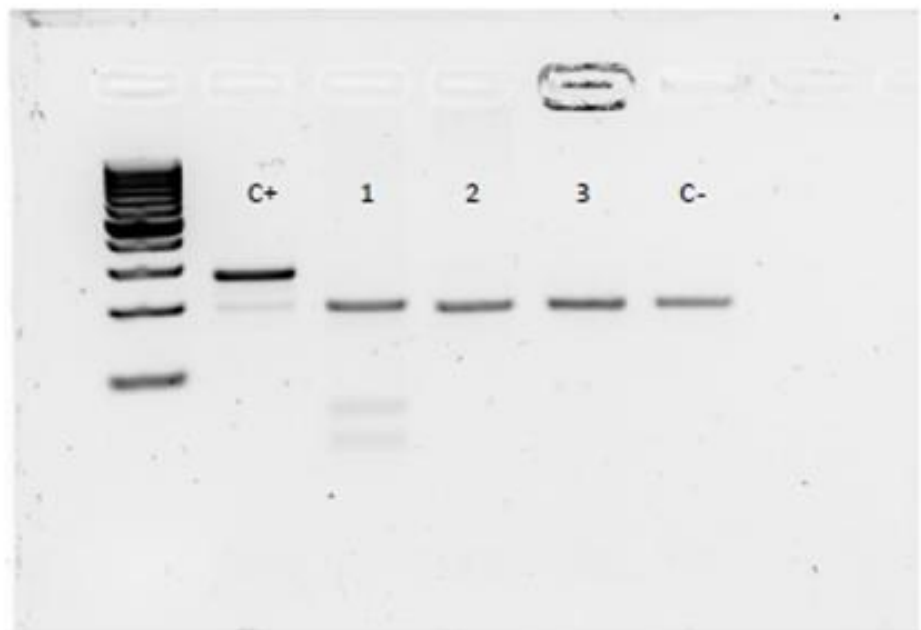


Anexo 6

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(SYBR[®] Safe)

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