



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **SSP PBiPS P1-Sv4F-7** 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

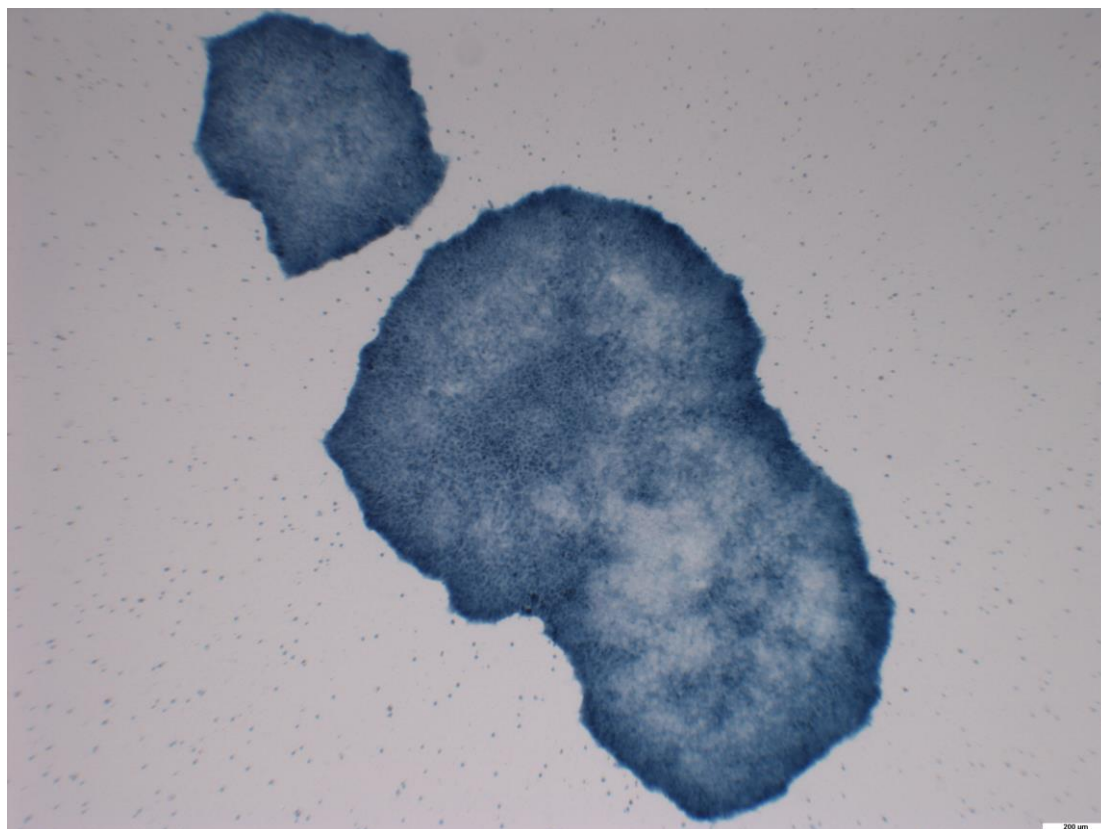
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

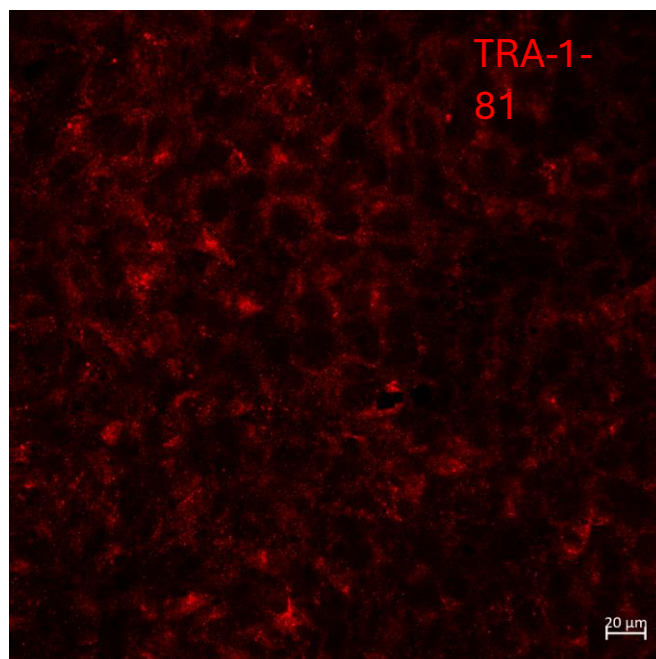
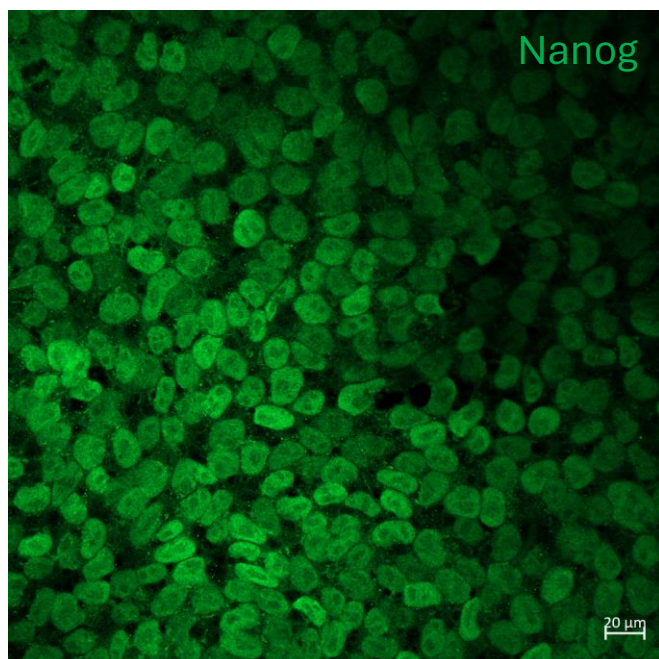


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

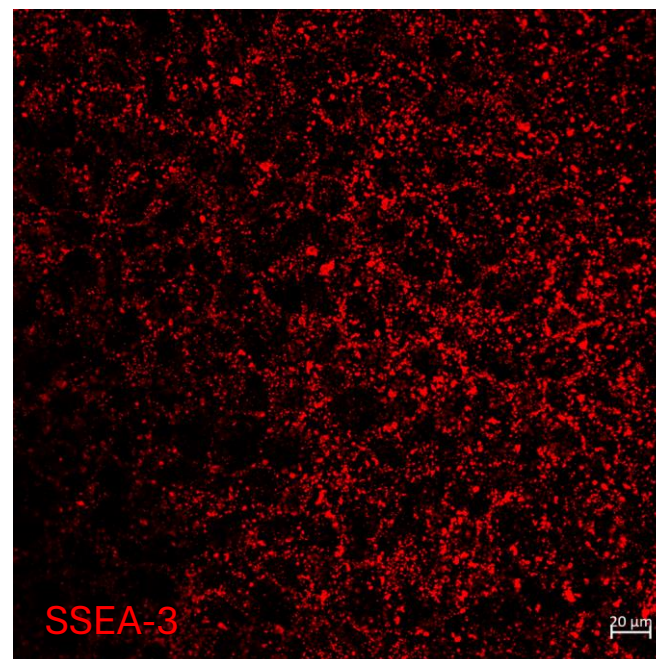
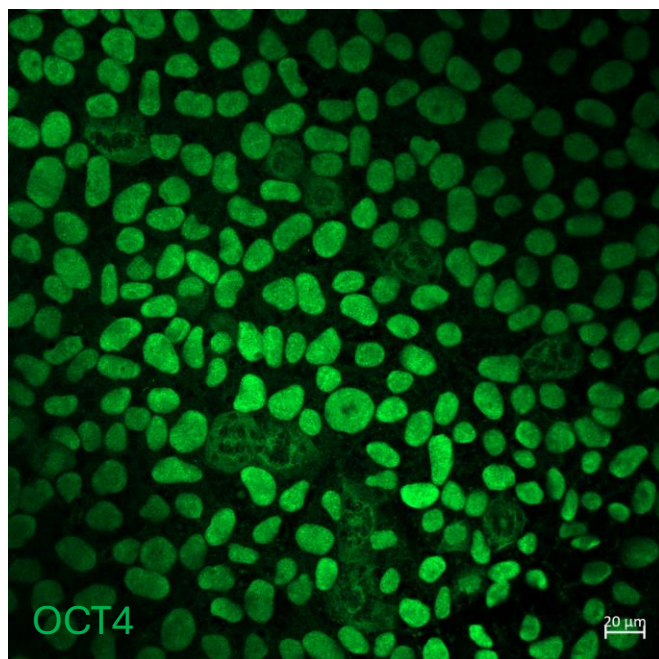


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



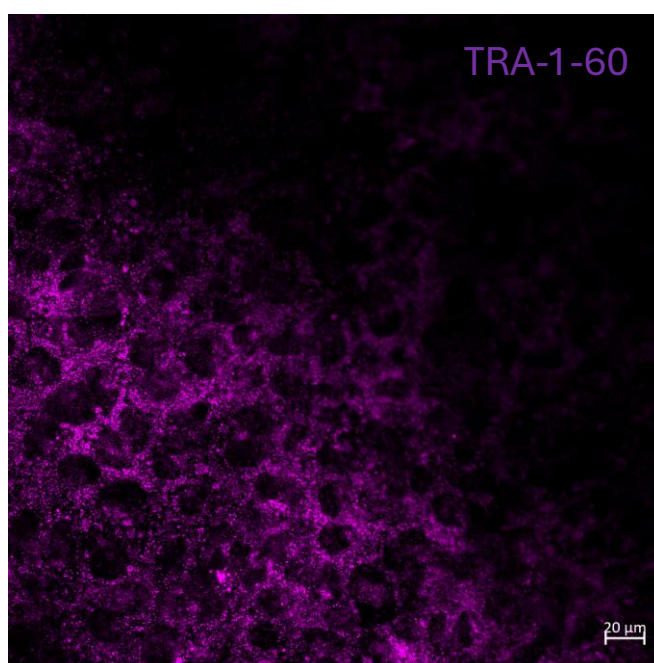
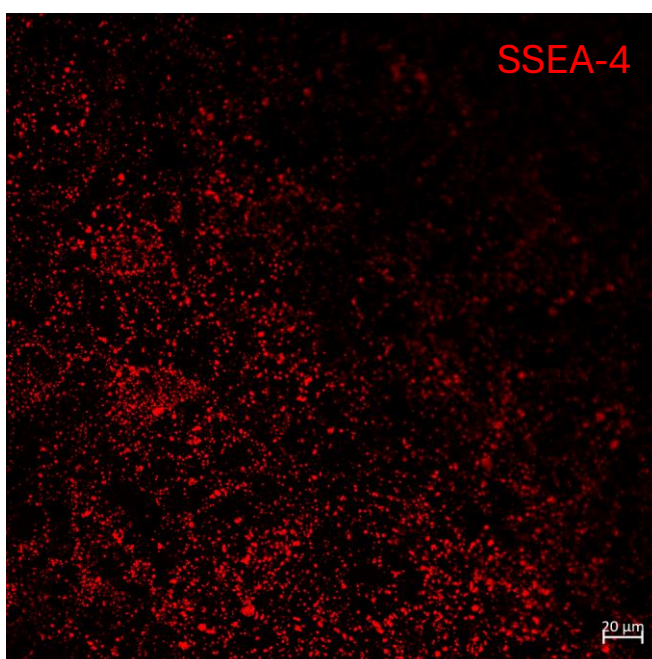
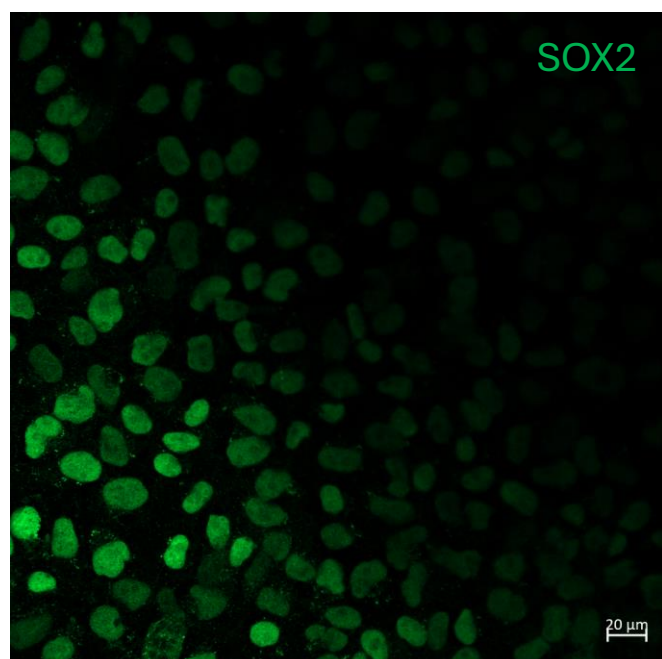
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



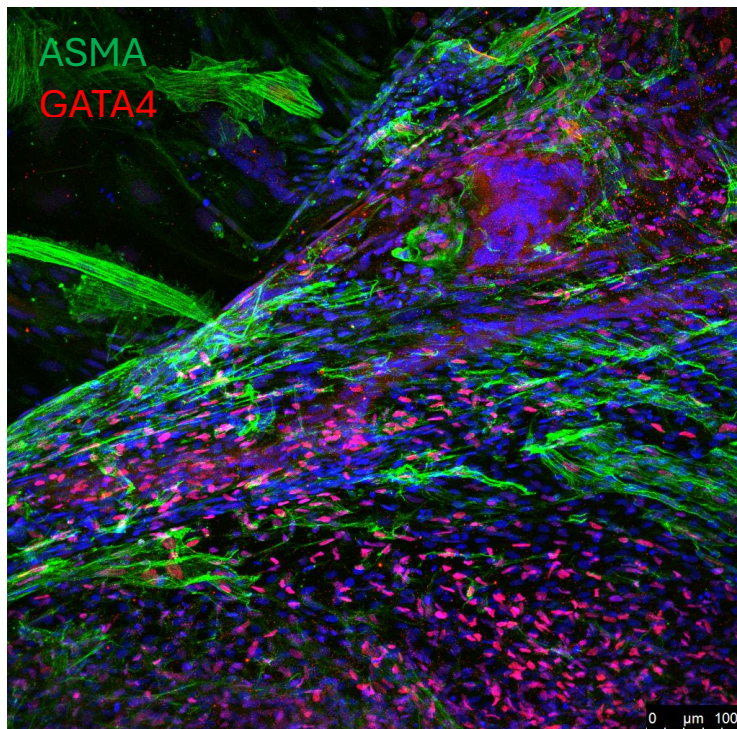
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

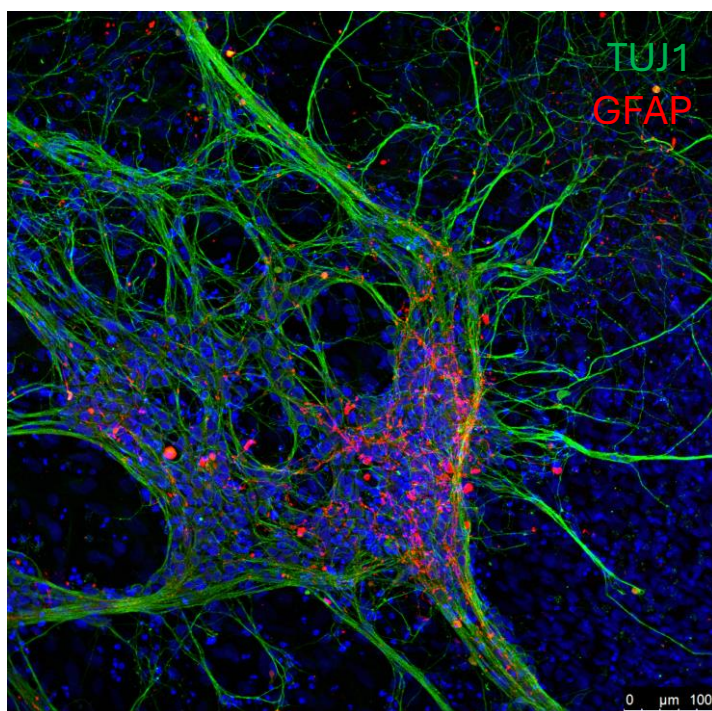


Anexo 2

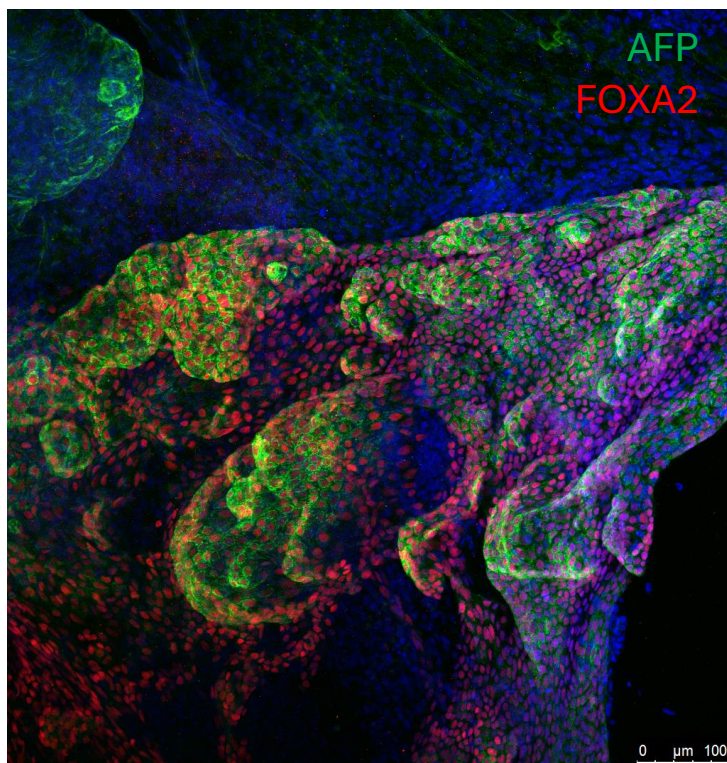
Diferenciación *in vitro*



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: 33140858

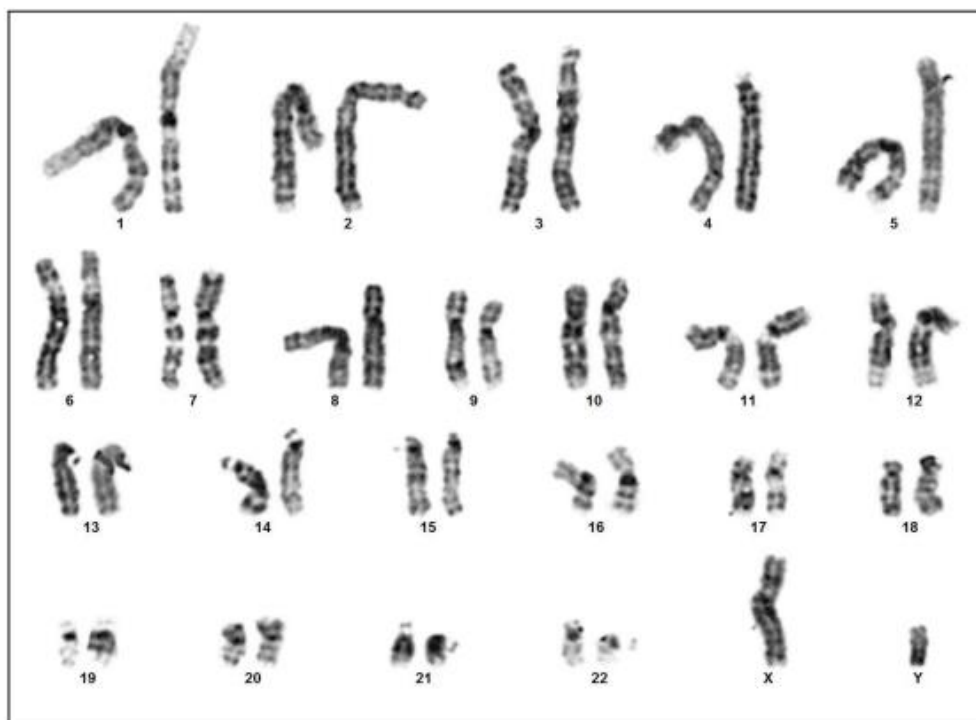
Department: IDIBELL

Name: SSP PBiPSP1-Sv4F-7 p16

Date: 11/28/2023

NHC: CT0697

Sample: CM



Case: 33140858 Slide: 2 Cell: 1F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

<u>Mostra:</u>	<u>Identificació</u>	<u>ID Ambar</u>	<u>Tipus de mostra</u>
SSP_PBIPS P1_SV4F-7 P15		1221795	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 1221795	
D8S1179	8	10	14
D21S11	21q11.2-q21	28	30
D7S820	7q11.21-22	8	11
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	16	16
TH01	11p15.5	8	9.3
D13S317	13q22-31	8	11
D16S539	16q24-qter	12	12
D2S1338	2q35-37.1	16	18
D19S433	19q12-13.1	13	14
VWA	12p12-pter	14	15
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	15	15
D5S818	5q21-31	11	11
FGA	4q28	22	25
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, 20/12/2023



Dr. J.V. Martínez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
PERIPHERAL BLOOD P1, 23.05.23		1221741	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 1221741	
D8S1179	8	10	14
D21S11	21q11.2-q21	28	30
D7S820	7q11.21-22	8	11
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	16	16
TH01	11p15.5	8	9,3
D13S317	13q22-31	8	11
D16S539	16q24-qter	12	12
D2S1338	2q35-37.1	16	18
D19S433	19q12-13.1	13	14
VWA	12p12-pter	14	15
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	15	15
D5S818	5q21-31	11	11
FGA	4q28	22	25
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, 04/07/2023



Dr. J.V. Martínez 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

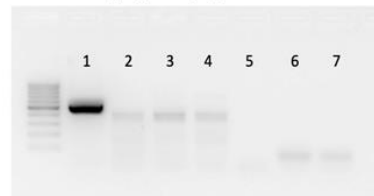
28/08/23

1. POSITIVE CONTROL
2. SSP PBiPSP1-Sv4F-1 p8
3. SSP PBiPSP1-Sv4F-2 p9
4. SSP PBiPSP1-Sv4F-7 p9
5. Sample NO RT
6. NEGATIVE CONTROL
7. H2O

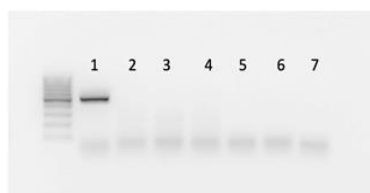
Sev (181 pb)



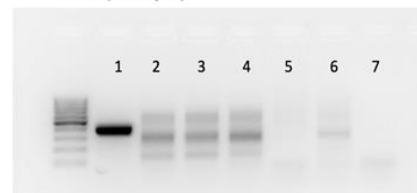
C- Myc (532 pb)



KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



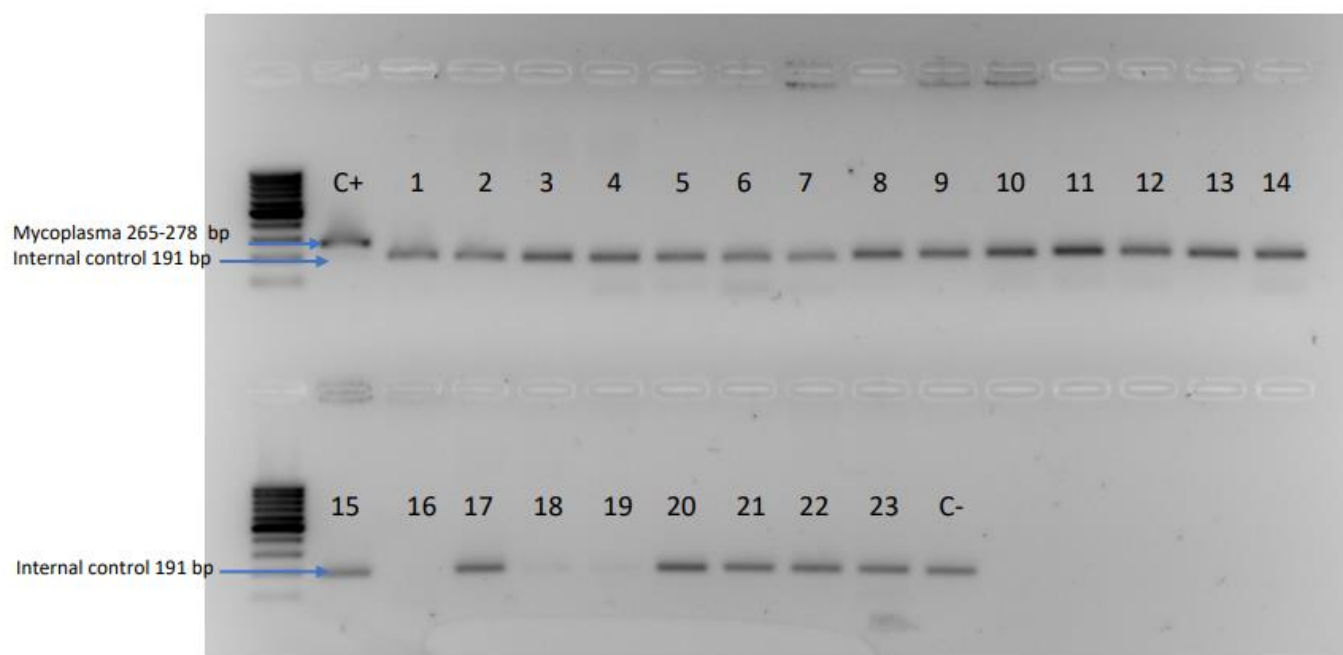
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 20/09/2023



5. BA1: SSP PBiPSP1-Sv4F-2 p10
6. BA2: SSP PBiPSP1-Sv4F-7 p10
7. BA3: SSP PBiPSP1-Sv4F-1 p10