



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **ALD FiPS102-Ep6F-1** 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

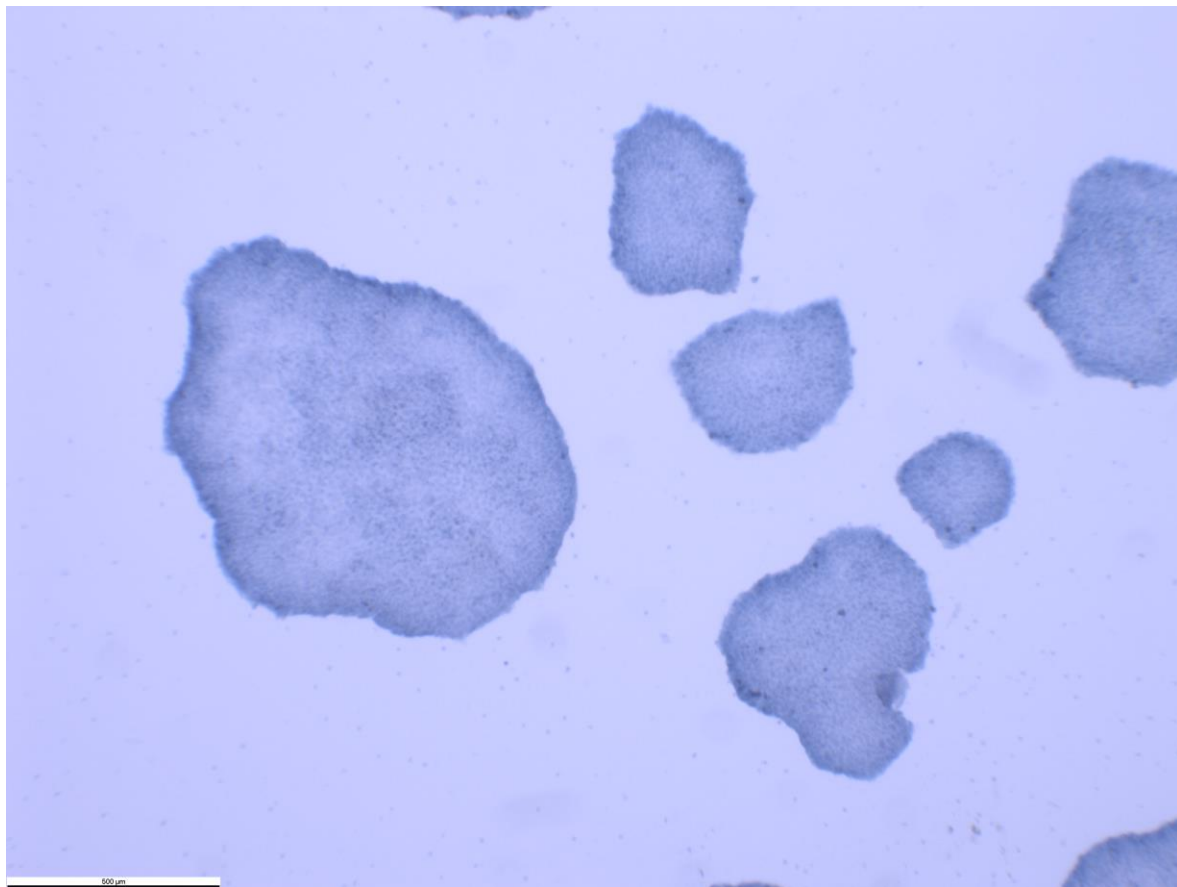
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

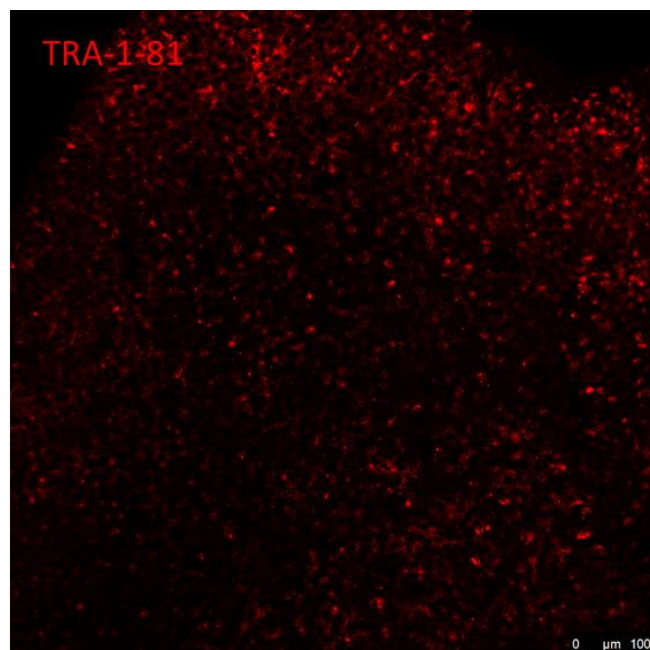
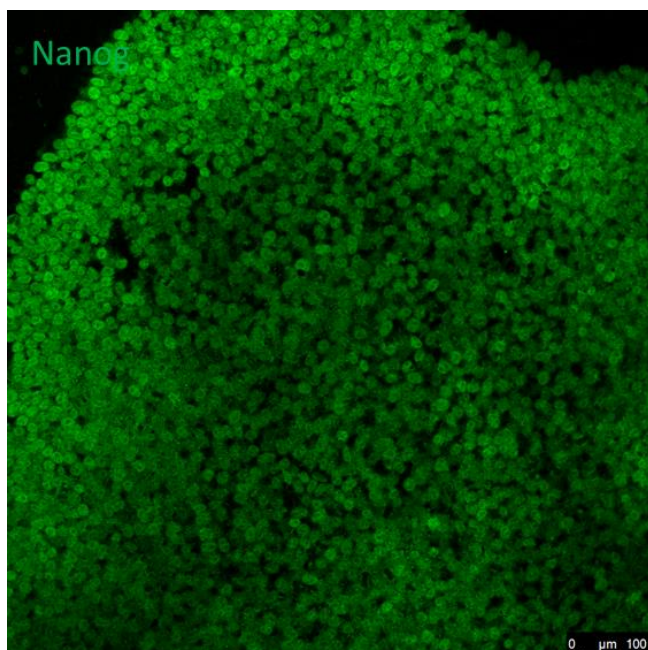


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

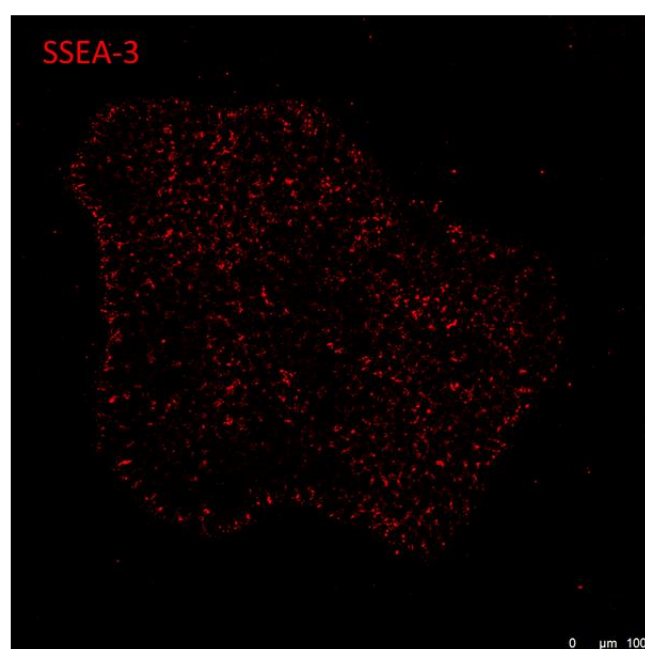
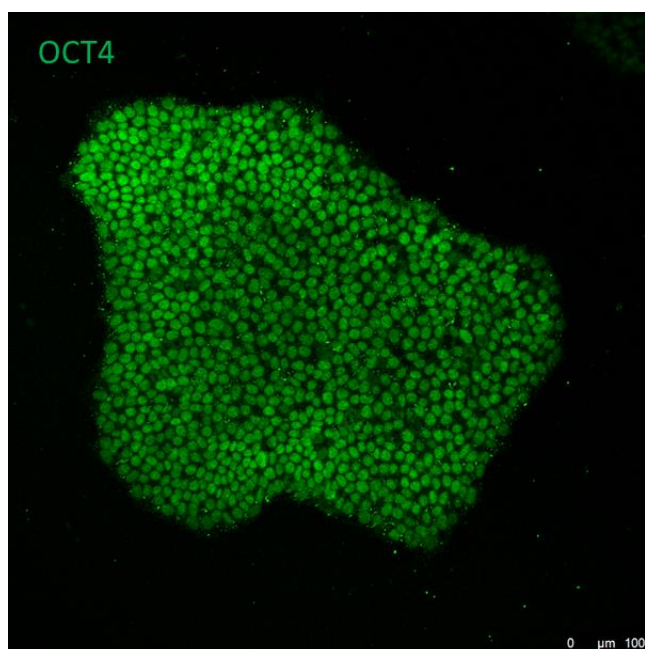


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



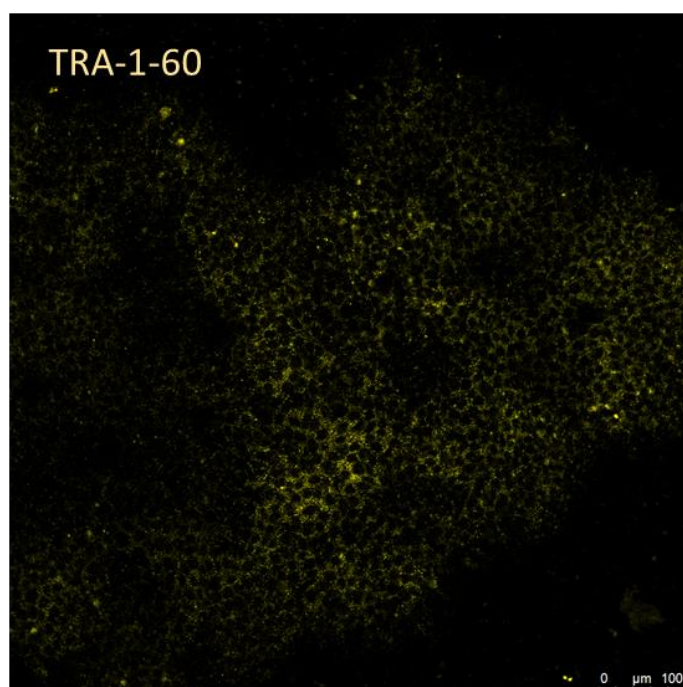
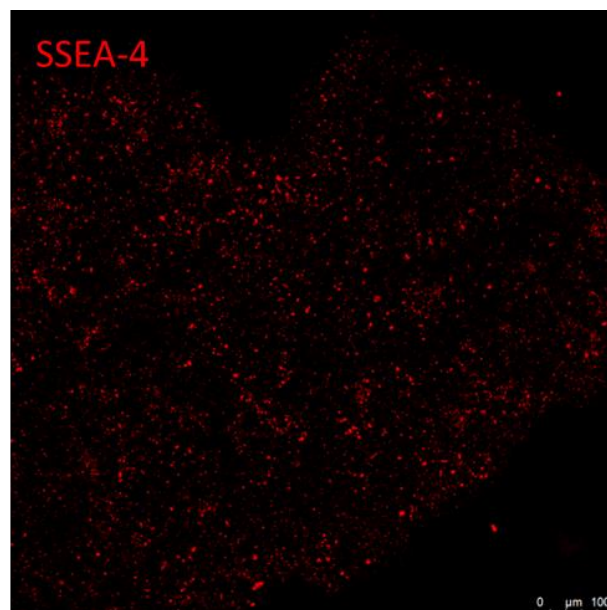
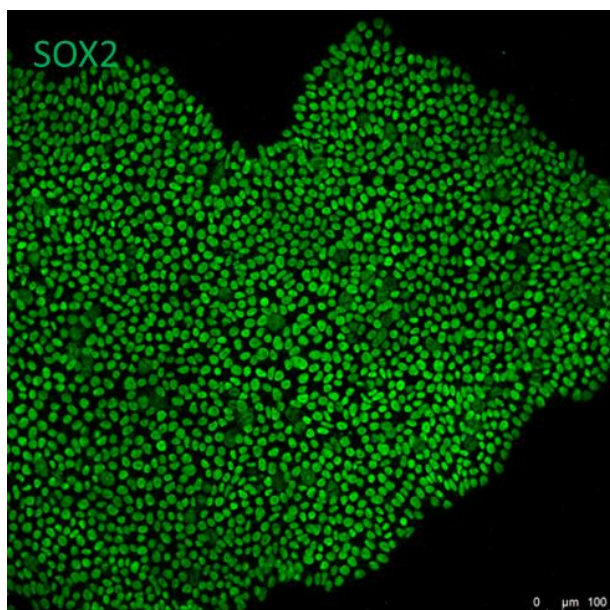
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



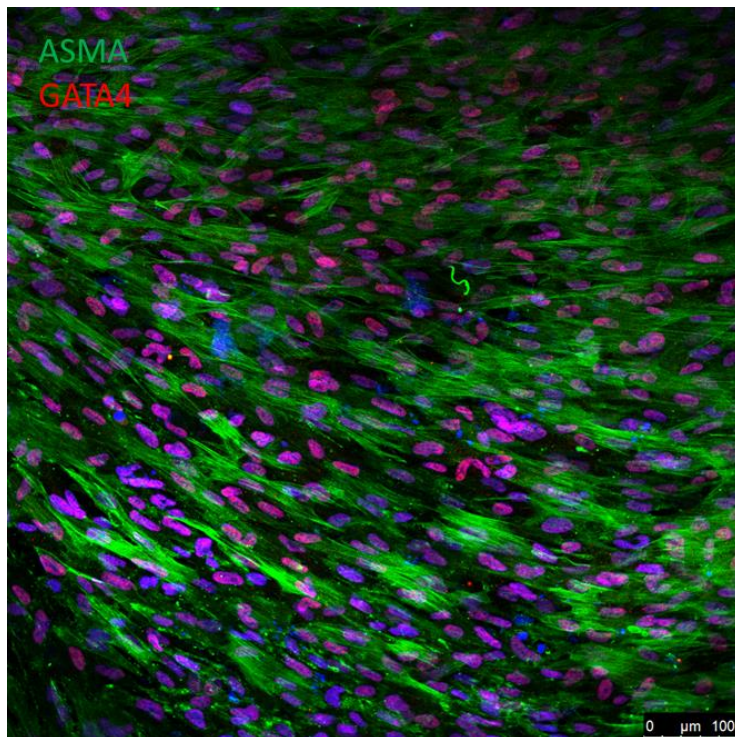
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

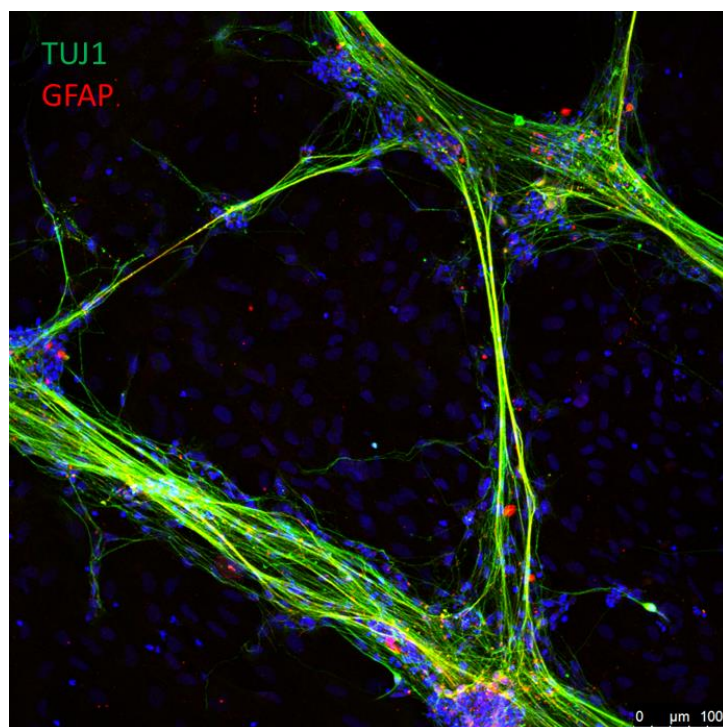


Anexo 2

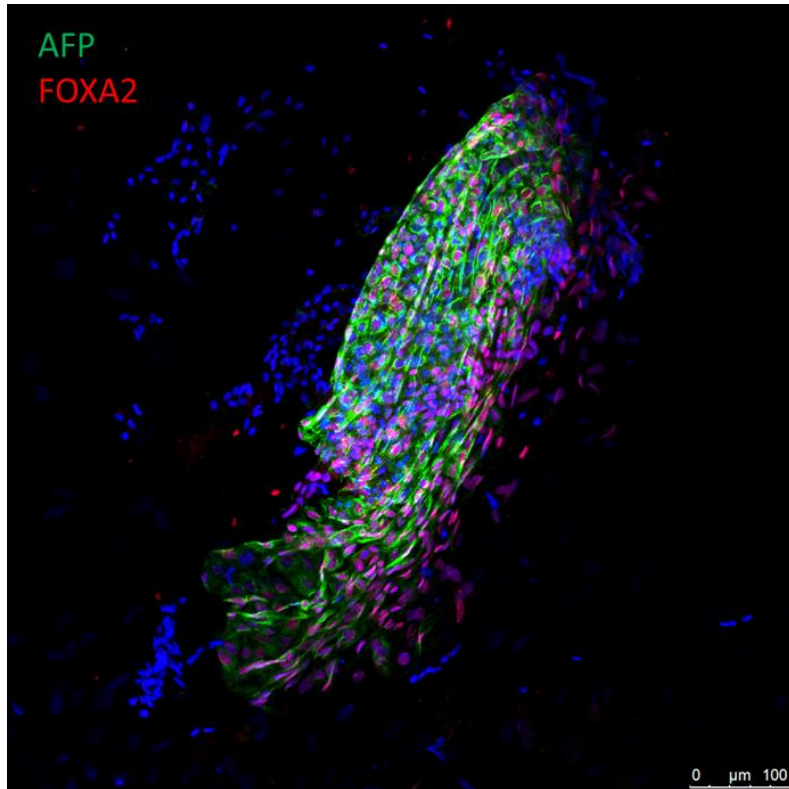
Diferenciación *in vitro*



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**



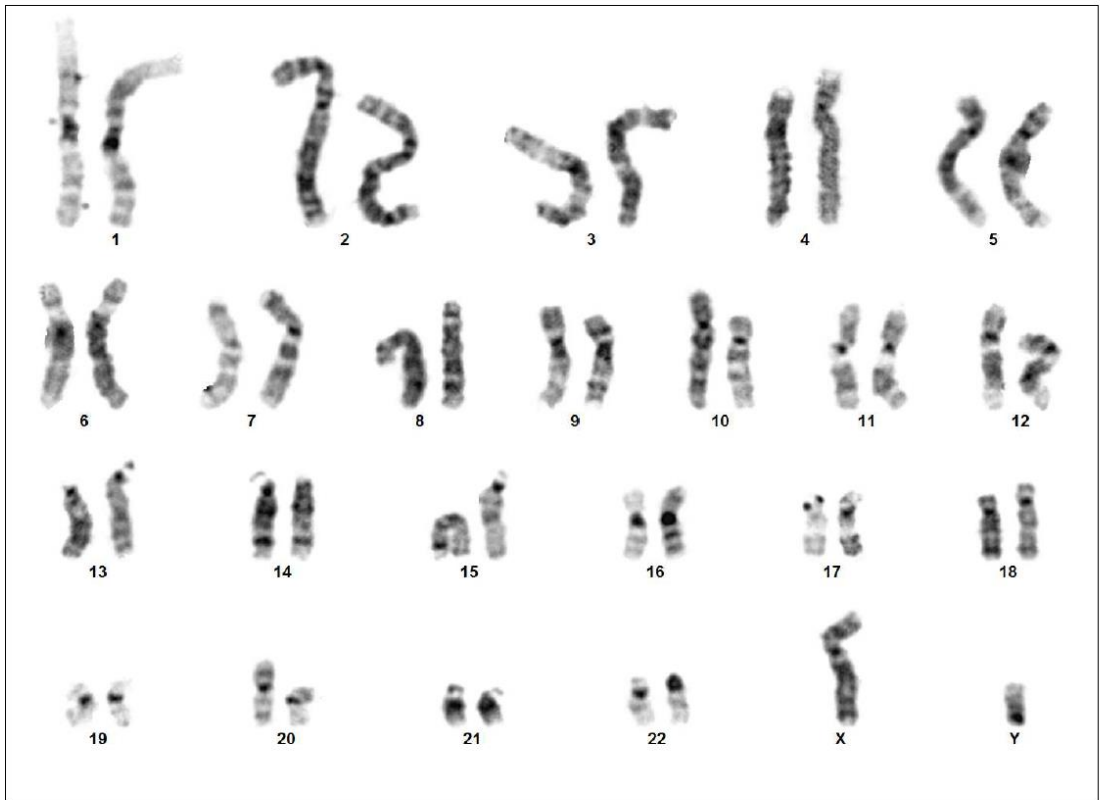
Anexo 3

Cariotipo

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 43470671
Name: ALD FiPS102-Ep6F-1 p11
NHC: CT0958

Department: IDIBELL
Sample: CM
Date: 12/20/2024



Case: 43470671 Slide: 2 Cell: 2

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsátélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

<u>Mostra:</u>	<u>Identificació</u> ALD FIPS102-EP6F-1 P13	<u>ID Ambar</u> 1335147	<u>Tipus de mostra</u> 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 1335147	
D8S1179	8	10	13
D21S11	21q11.2-q21	30	31,2
D7S820	7q11.21-22	8	10
CSF1PO	5q33.3-34	11	13
D3S1358	3p	15	15
TH01	11p15.5	6	9,3
D13S317	13q22-31	9	11
D16S539	16q24-qter	10	11
D2S1338	2q35-37.1	16	20
D19S433	19q12-13.1	13	15
VWA	12p12-pter	15	15
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	16	19
D5S818	5q21-31	11	12
FGA	4q28	19	21
AMELOGENINA*	X: p22.1-22.3- Y: p11.2	X	Y

*Amelogenina: Resultat al·lel relatiu al sexe cromosòmic: XX (sexe femeni); XY (sexe masculí)

L'Hospitalet del Llobregat, 18/02/2025



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra: **Identificació** **ID Ambar** **Tipus de mostra**
 FB ALD102,P11,1M CELLS, 17.06.2025 1335155 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 1335155	
D8S1179	8	10	13
D21S11	21q11.2-q21	30	31,2
D7S820	7q11.21-22	8	10
CSF1PO	5q33.3-34	11	13
D3S1358	3p	15	15
TH01	11p15.5	6	9,3
D13S317	13q22-31	9	11
D16S539	16q24-qter	10	11
D2S1338	2q35-37.1	16	20
D19S433	19q12-13.1	13	15
VWA	12p12-pter	15	15
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	16	19
D5S818	5q21-31	11	12
FGA	4q28	19	21
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, 07/03/2025



Dr. J.V.Martinez Mas
 Director de Laboratorio

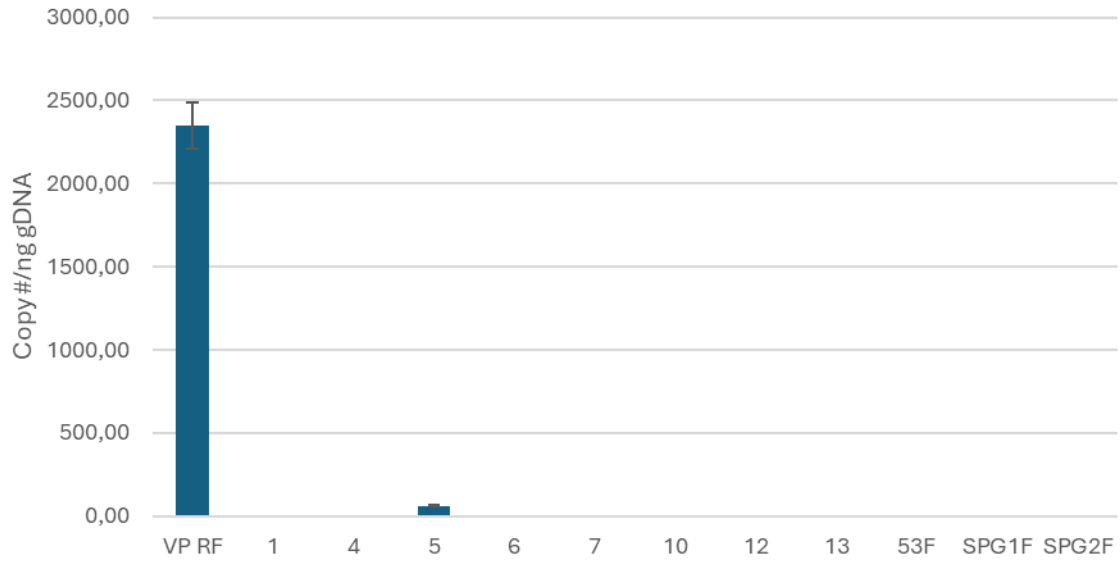
Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.



Anexo 5

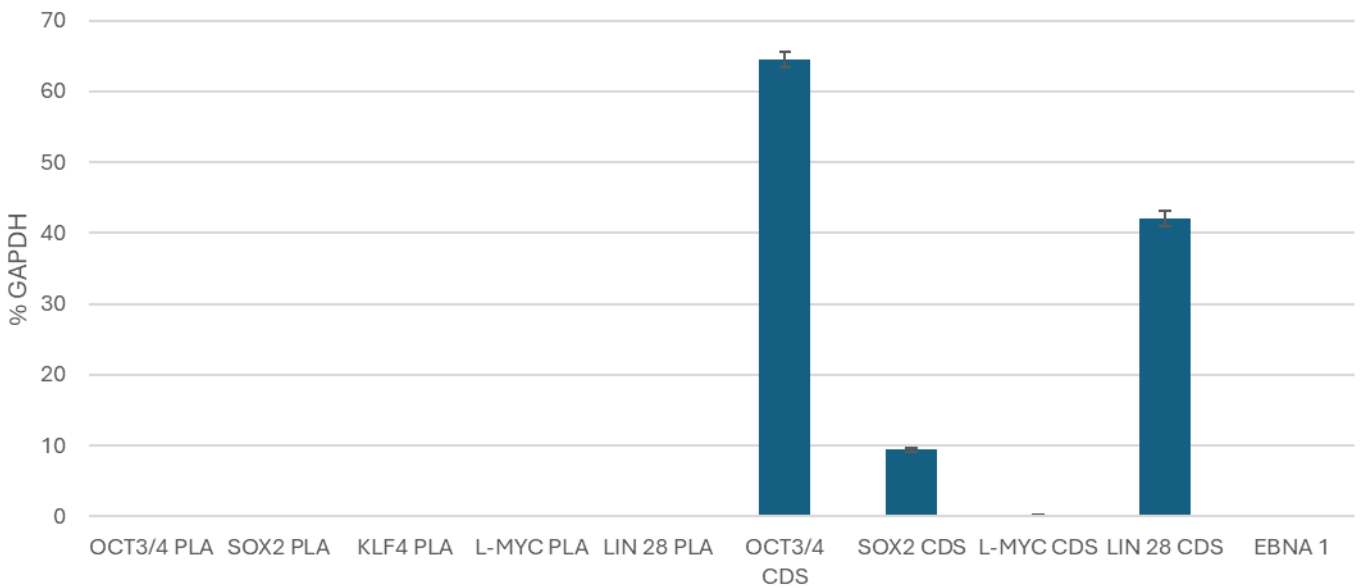
Ausencia de los transgenes de reprogramación

Episomal copy number ALD FiPS102-Ep6F-



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en diversos clones de la línea de iPSC **ALD FiPS102-Ep6F-**, en fibroblastos control no-nucleofectados (**SPG1F y SPG2F**) y la presencia de plásmidos en fibroblastos control GFP-nucleofectados 72h después de la nucleofección (**VP-RF**)

ALD FiPS102 Ep6F-1, P9, 12.11.24



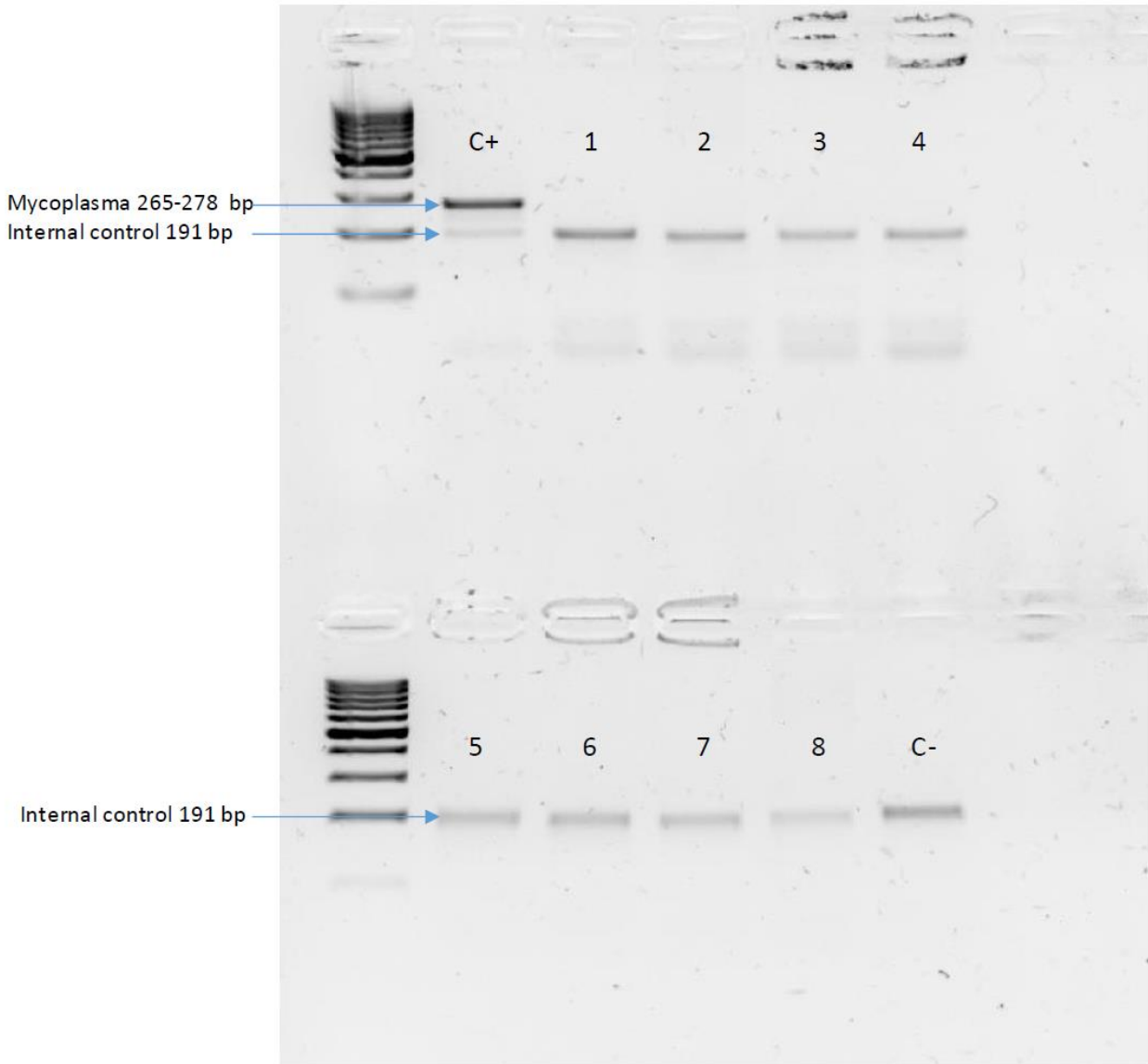
Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **ALD FiPS102-Ep6F-1**



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 29/01/2025



4. ALD FiPS102-Ep6F-1p12