

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA
CELULAR **AD-PBiPS1-Sv4F-1** EN EL BANCO
NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANEXOS

Anexo 1: Test de pluripotencia.

Anexo 2: Test de diferenciación in vitro.

Anexo 3: Cariotipo.

Anexo 4: Huella genética por análisis de STR.

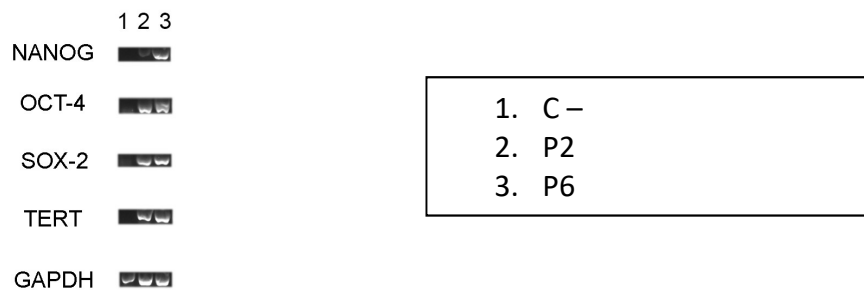
Anexo 5: Test de silenciamiento.

Anexo 6: Test de micoplasma.

Anexo 1. Test de pluripotencia.

La caracterización de la pluripotencia de la línea iPSC generada se llevó a cabo mediante el análisis por PCR de los marcadores OCT4, NANOG, SOX2 y TERT. GAPDH se utilizó como control “House-keeping”.

The characterization of the pluripotency of the generated iPSC line was carried out by PCR analysis of the OCT4, NANOG, SOX2 and TERT markers. GAPDH was used as control House-keeping.

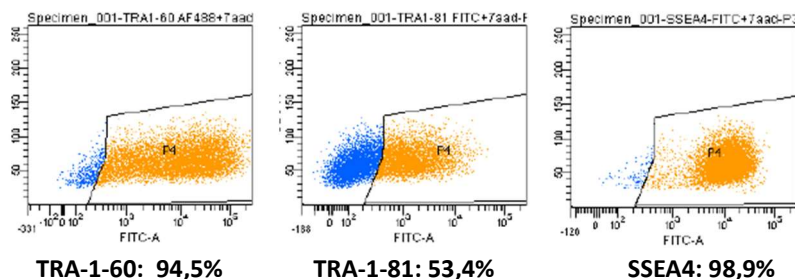


La línea celular presentó expresión de los genes específicos de pluripotencia en el pase 6. Estos genes no mostraron expresión en pases previos ni en los PBMCs que se usaron como control negativo.

The cell line showed expression of the specific pluripotency genes in Passage 6. These genes did not show expression in previous passages nor in the PBMCs used as negative control.

Los marcadores de pluripotencia Tra-1-60, Tra-1-81 y SSEA4 se determinaron mediante citometría de flujo.

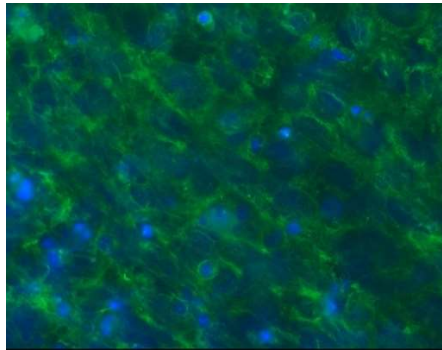
The pluripotency markers Tra-1-60, Tra-1-81 and SSEA4 were determined by flow cytometry.



Anexo 2. Test de diferenciación in vitro.

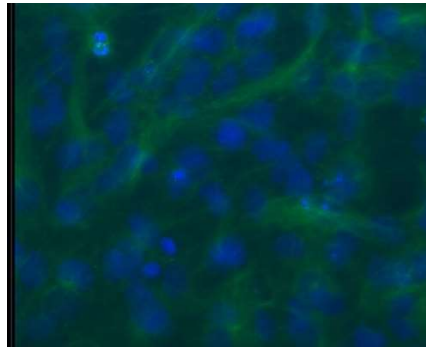
Diferenciación in vitro a mesodermo: Positiva para ASM (alfa-actina de musculo liso)

In vitro differentiation to mesoderm: Positive for ASM (alpha-smooth muscle actin)



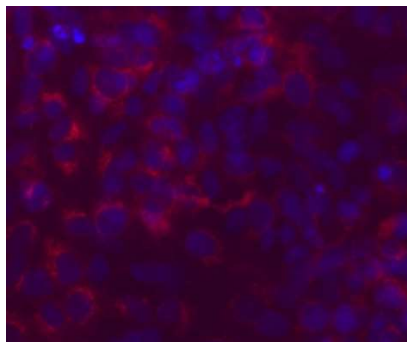
Diferenciación in vitro a ectodermo: Positiva para **TUJ1** (beta tubulina III)

In vitro differentiation to ectoderm: Positive for TUJ1 (beta tubulin III)



Diferenciación in vitro a endodermo: Positiva para **AFP** (alfa-fetoproteína)

In vitro differentiation to endoderm: Positive for AFP (alpha-fetoprotein)

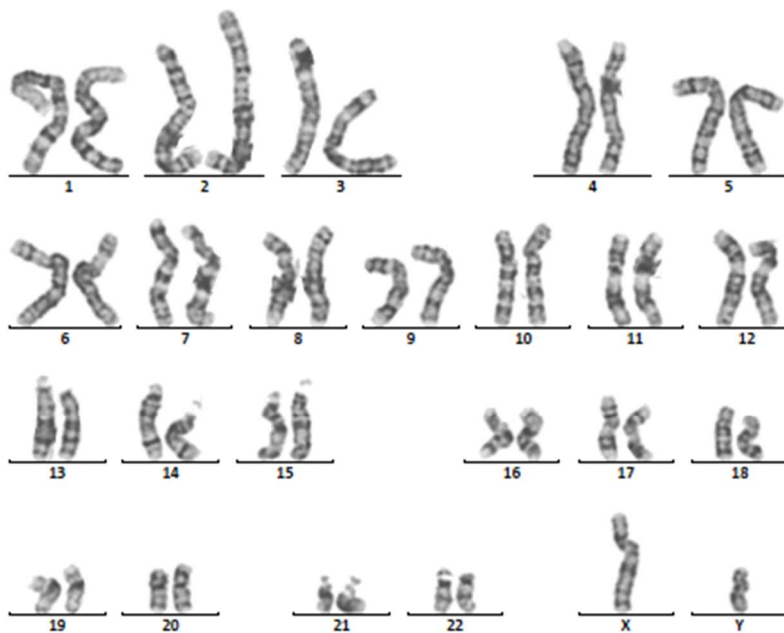


Anexo 3. Cariotipo.

Código de Biobanco: AD-PBiPS1-Sv4F-1
Código de origen: AD-PBiPS1-Sv4F-1
Petición de servicio:

Fecha de entrada: 09/04/24
Tipo de muestra: iPSC
Técnica: Bandas G

RESULTADOS ANÁLISIS CITOGÉNÉTICO



Cariotipo: 46,XY

Diagnóstico citogenético: Línea celular compatible con cariotipo masculino sin alteraciones.

Comentarios cariotipo: El resultado del estudio está limitado por la sensibilidad de la técnica.

Anexo 4. Huella genética por análisis de STR.

Línea hiPSC AD-PBiPS1-Sv4F-1

D8S1179	14, 15
D21S11	28, 30
D7S820	7, 12
CSP1PO	10, 12
D3S1358	15, 18
TH01	6, 9.3
D13S317	10, 12
D16S539	12, 13
D2S1338	17, 24
D19S433	13, 16
vWA	16, 17
TPOX	8, 11
D18S51	16
AMEL	X, Y
D5S818	11, 12
FGA	24, 25

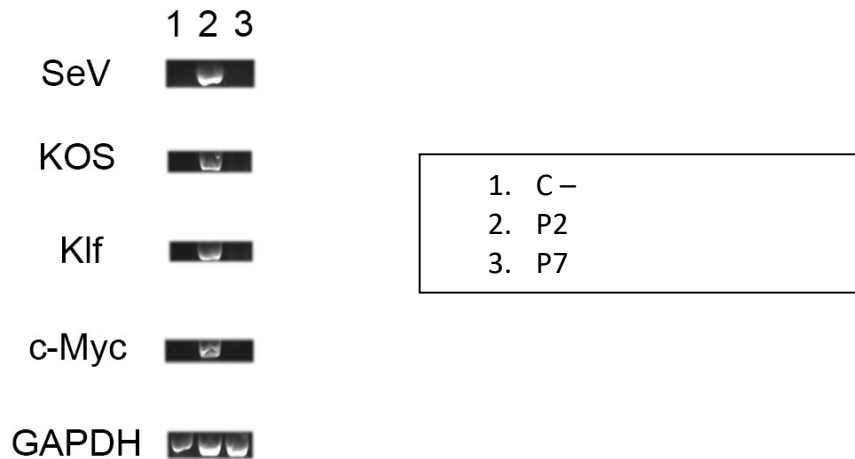
PBMCs de origen

D8S1179	14, 15
D21S11	28, 30
D7S820	7, 12
CSP1PO	10, 12
D3S1358	15, 18
TH01	6, 9.3
D13S317	10, 12
D16S539	12, 13
D2S1338	17, 24
D19S433	13, 16
vWA	16, 17
TPOX	8, 11
D18S51	16
AMEL	X, Y
D5S818	11, 12
FGA	24, 25

Anexo 5. Test de silenciamiento.

La confirmación del silenciamiento de los factores de reprogramación exógenos del virus Sendai se llevó a cabo mediante el análisis por PCR de los marcadores Klf4, KOS2, C-Myc y SeV. GAPDH se utilizó como control "House-keeping".

The confirmation of the silencing of the exogenous reprogramming factors of the Sendai virus was carried out by PCR analysis of the Klf4, KOS2, C-Myc and SeV markers. GAPDH was used as "house-keeping" control.



La línea AD-PBiPS1-Sv4F-1 confirmó el silenciamiento en el P7, que muestra un resultado positivo en pases previos (P2). Los PBMCs se utilizaron como control negativo.

The AD-PBiPS1-Sv4F-1 cell line confirmed its silencing at P7, which was positive in previous passages (P2). The PBMCs were used as negative control.

Anexo 6. Test de micoplasma.

La detección de micoplasma se realizó con el kit Venor GeM qEP (Minerva Biolabs) mediante la amplificación específica del gen codificante para el ARNr 16S del micoplasma. El kit incluye un control interno de amplificación.

Mycoplasma detection was performed using the Venor GeM qEP kit (Minerva Biolabs) by specific amplification of the gene encoding the 16S rRNA of mycoplasma. The kit includes an internal amplification control.

Muestra	Micoplasma	Control interno
AD-PBiPS1-Sv4F-1	-	+
Control -	-	+
Control +	+	+