



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **RRMS PBiPS13-Sv4F-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

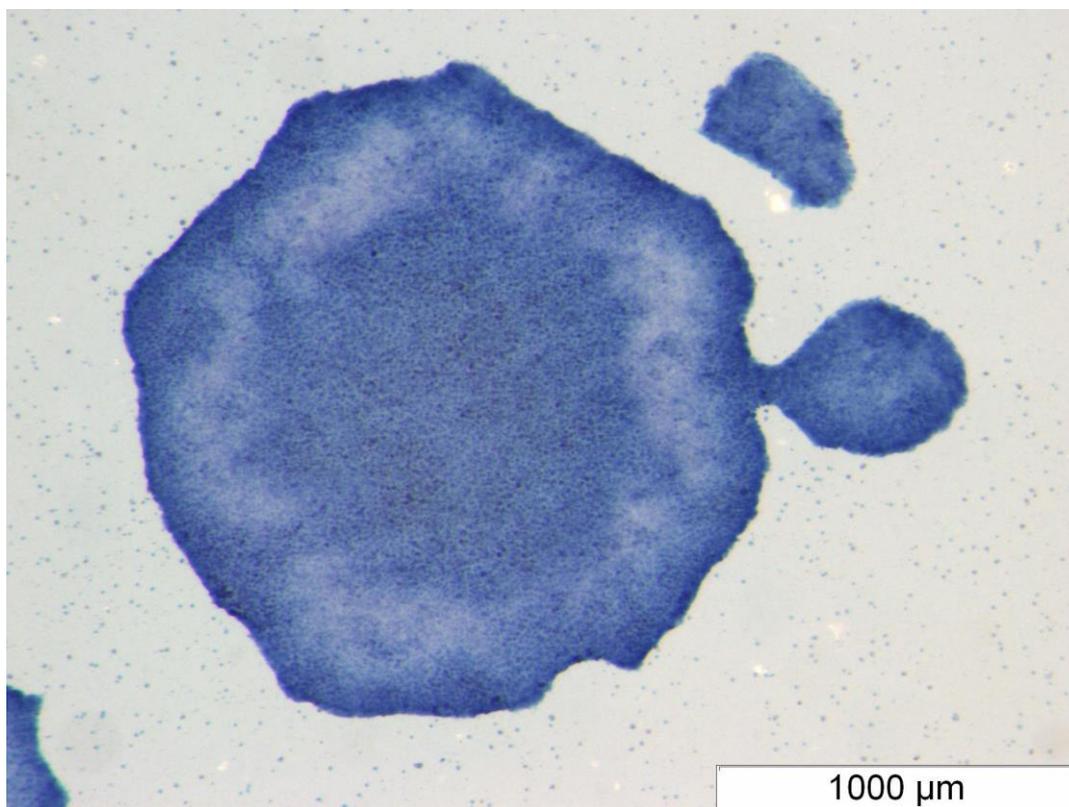
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

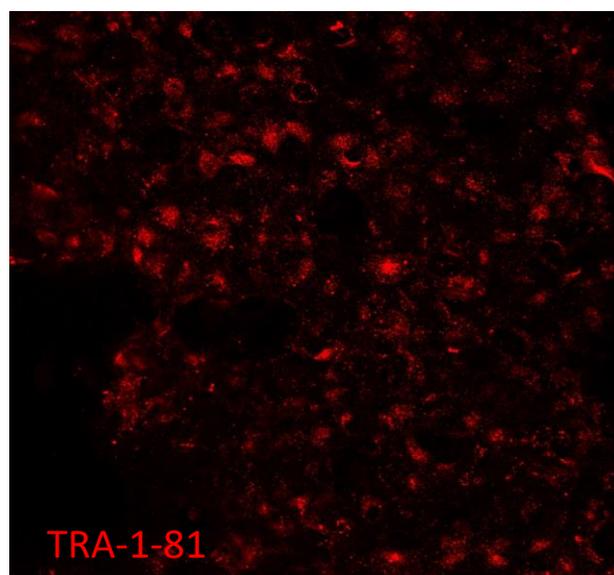
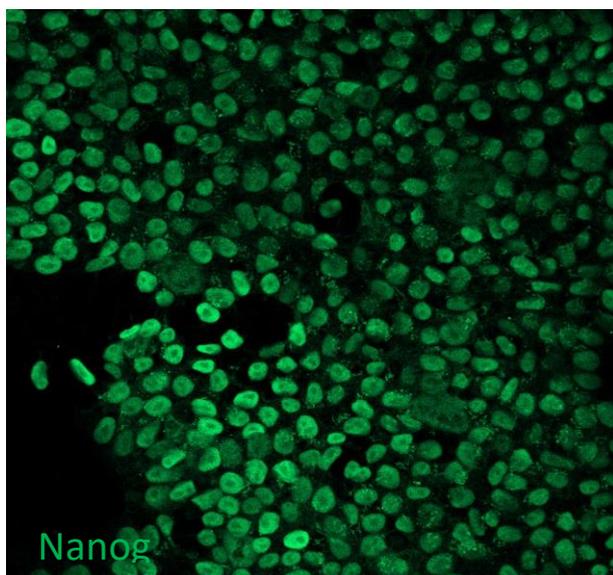


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

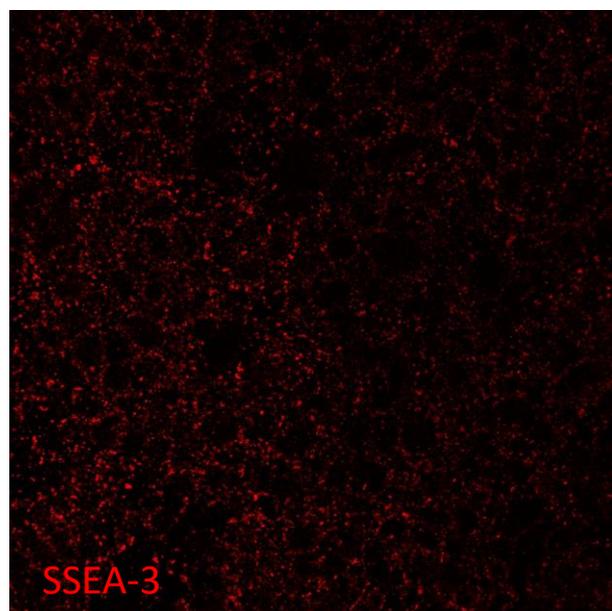
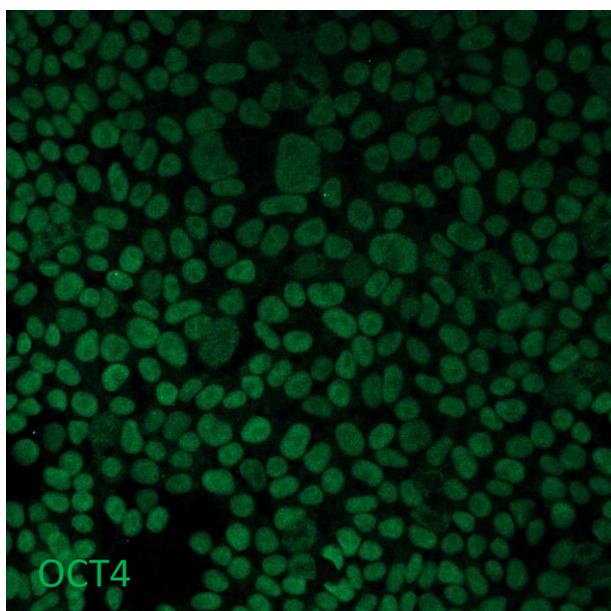


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



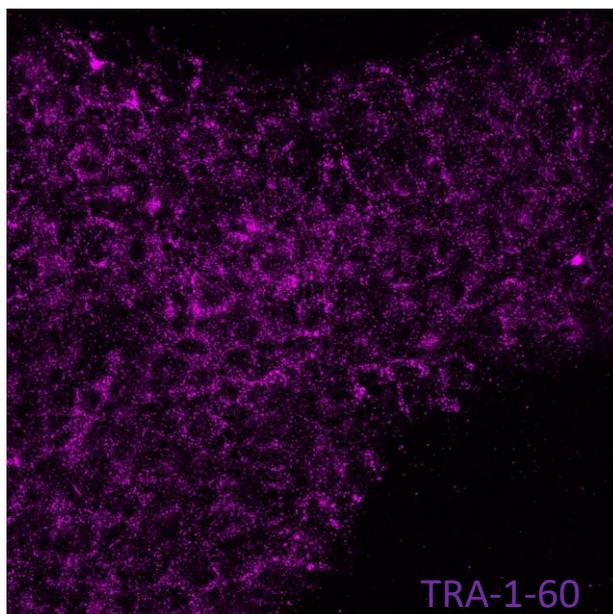
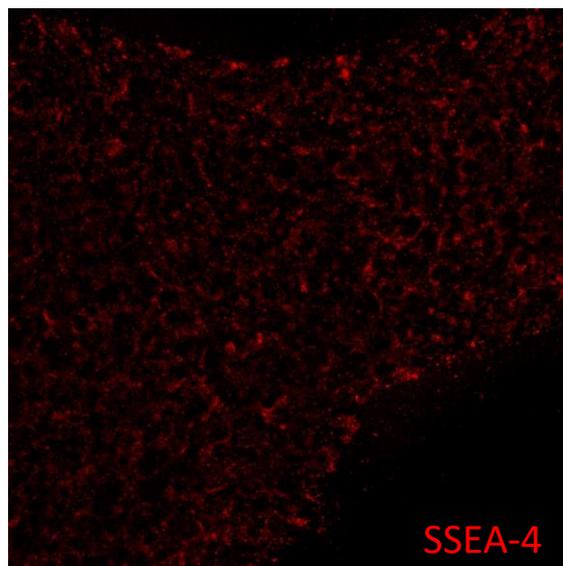
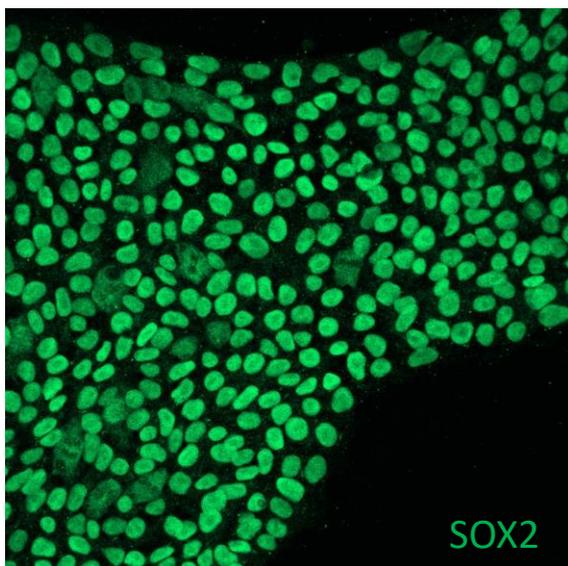
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



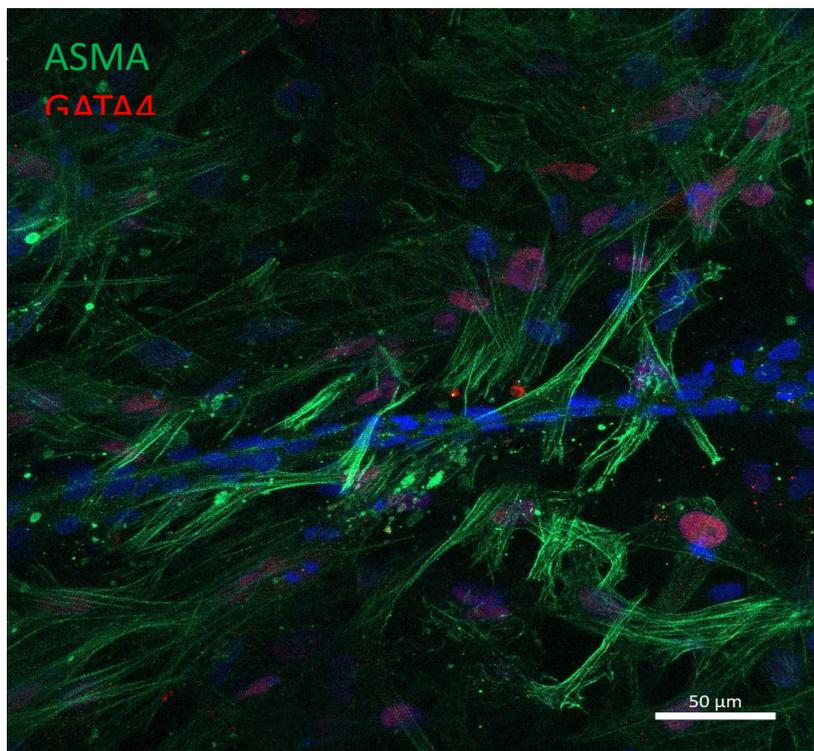
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

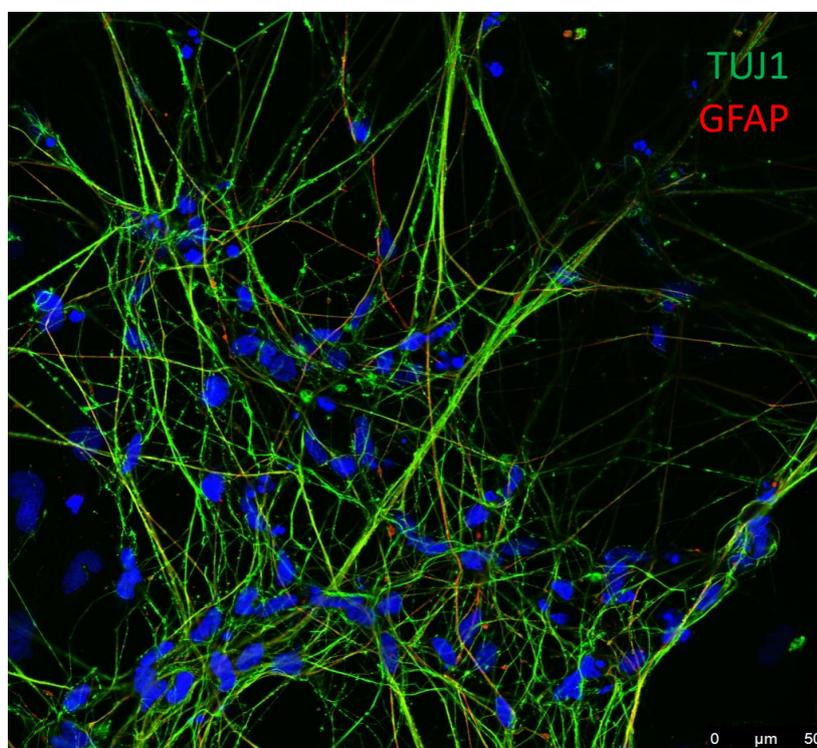


Anexo 2

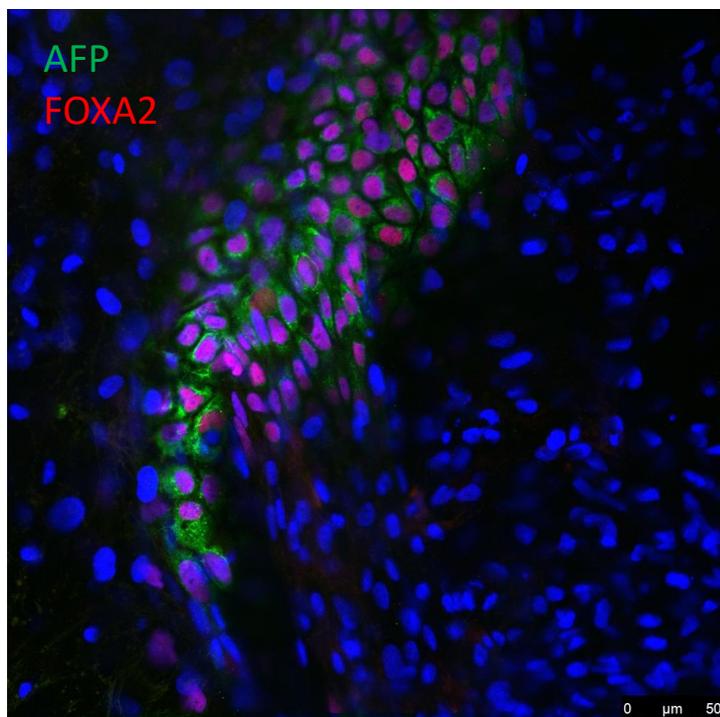
Diferenciación *in vitro*



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: 30870734

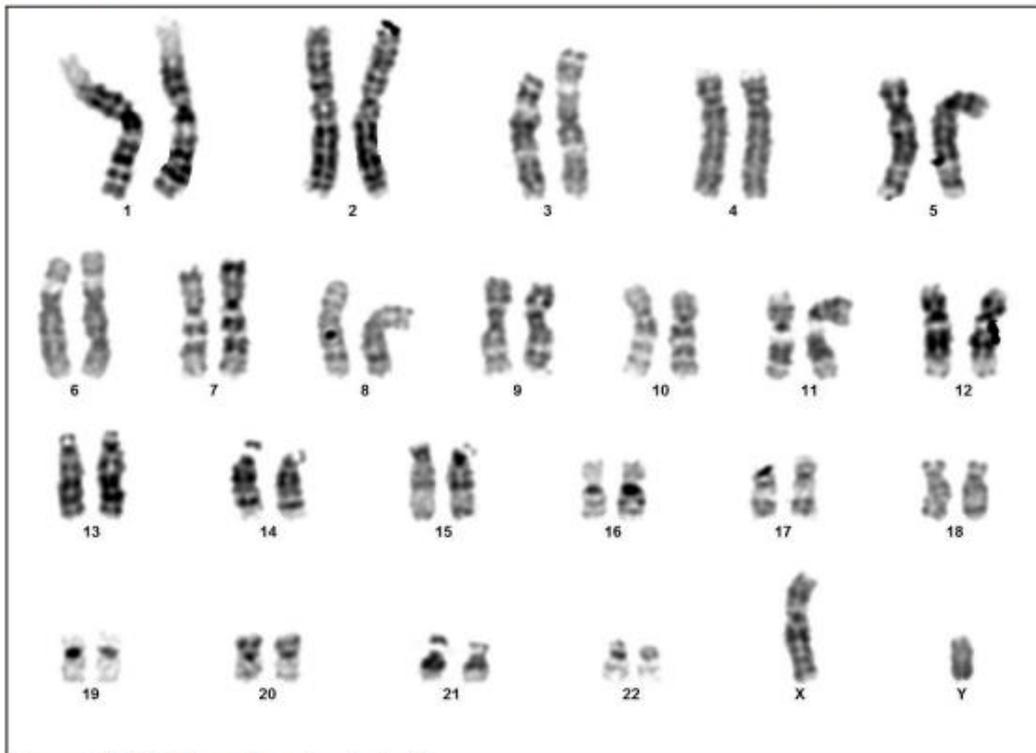
Name: RRMS PBiPS13-Sv4F-1 p13

NHC: CT0582

Department: IDIBELL

Date: 4/12/2023

Sample: CM



Case: 30870734 Slide: 1 Cell: 2F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació RRMS PBIPS13-SV4F-1 P16	ID Ambar 1221738	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® 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 1221738	
D8S1179	8	10	13
D21S11	21q11.2-q21	29	31,2
D7S820	7q11.21-22	8	12
CSF1PO	5q33.3-34	12	13
D3S1358	3p	16	17
TH01	11p15.5	8	9,3
D13S317	13q22-31	13	13
D16S539	16q24-qter	11	12
D2S1338	2q35-37.1	21	25
D19S433	19q12-13.1	12	16
VWA	12p12-pter	16	19
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	13	15
D5S818	5q21-31	12	13
FGA	4q28	21	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.Martinez Mas
Director de Laboratorio

P-CMR[C]

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	AMEL	vWA	TPOX
PB MS13 SAP12403521, 22.09.2022	8; 9.3	29; 31.2	12; 13	13	8; 12	11; 12	12; 13	X; Y	16; 19	8

Barcelona, a 28 de diciembre de 2022

Laboratorio Biología Molecular

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



Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0
28/04/23

1. PMM2 FB20484 Sv-Inf, 0,5M cells
2. RRMS_PBiPS13_Sv4F_1 p10
3. RRMS_PBiPS13_Sv4F_3 p9
4. NDD_PBiPS1_Sv4F_1 p8
5. NDD_PBiPS1_Sv4F_4 p8
6. NDD_PBiPS1_Sv4F_9 p8
7. NDD_PBiPS1_Sv4F_12 p7
8. NF1_FiPS227_Sv4F_12 p7
9. Sample NO RT
10. NEGATIVE CONTROL
11. H2O

Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



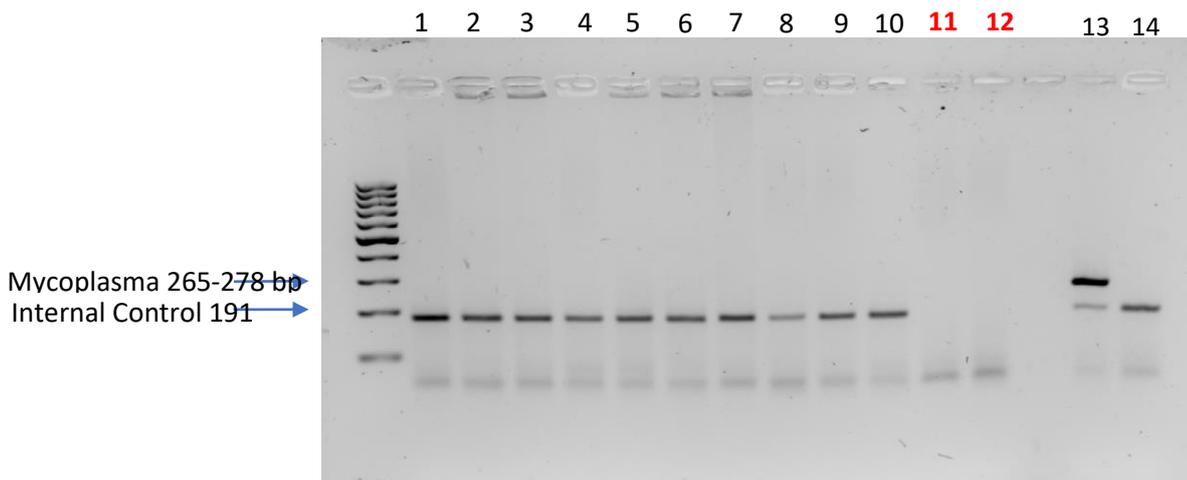
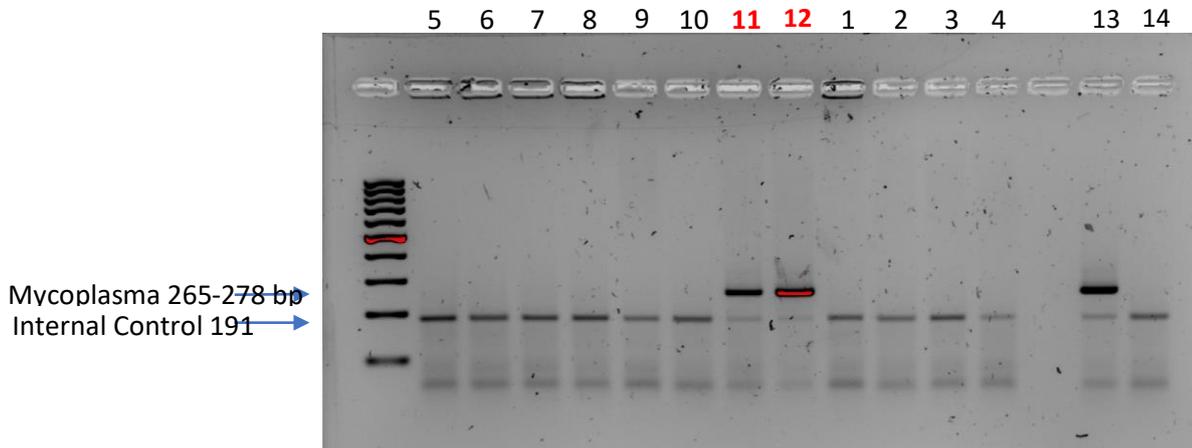
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

TEST DE MICOPLASMA 20230324



- 1- MICOP 230041
- 2- MICOP 230042- MS13-1 p10
- 3- MICOP 230043
- 4- MICOP 230044
- 5- MICOP 230045
- 6- MICOP 230046
- 7- MICOP 230047
- 8- MICOP 230048
- 9- MICOP 230049
- 10- MICOP 230050
- 11- MICOP 230051
- 12- MICOP 230052
- 13- CONTROL +
- 14- CONTROL - (H2O)