



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **S PBiPS654-Sv4F-8** 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

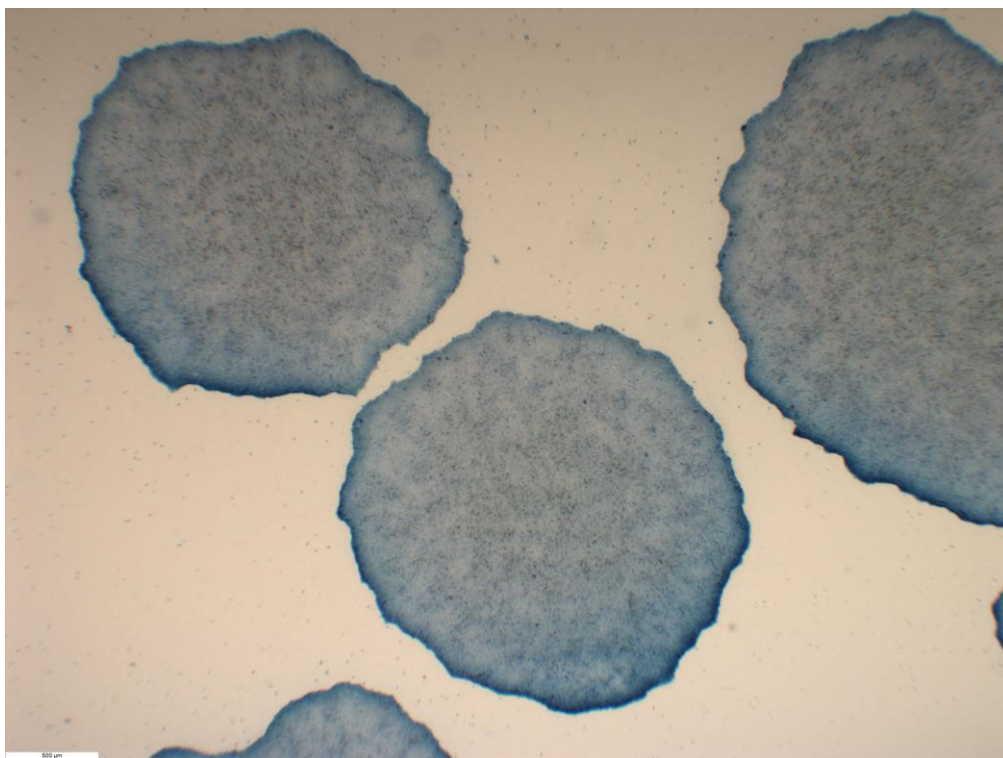
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

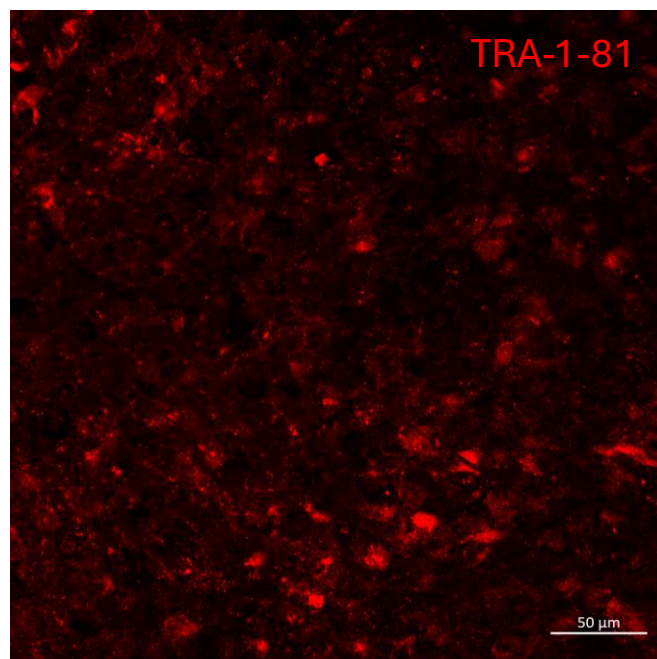
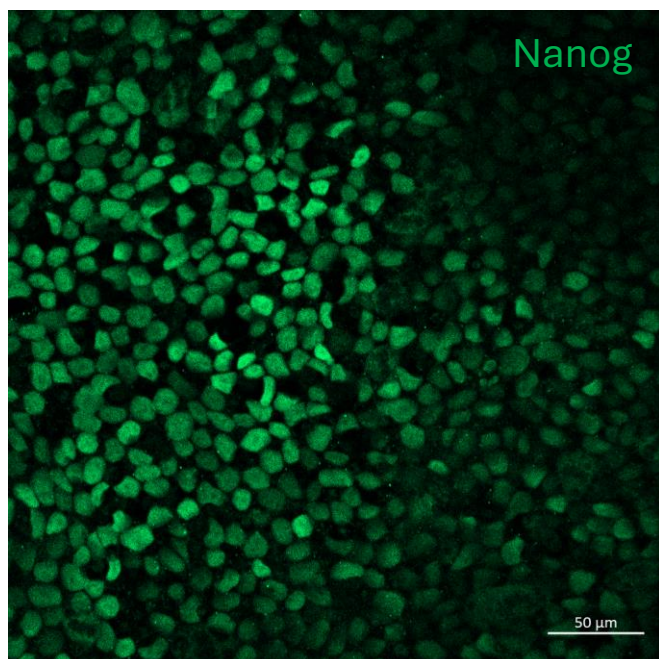


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

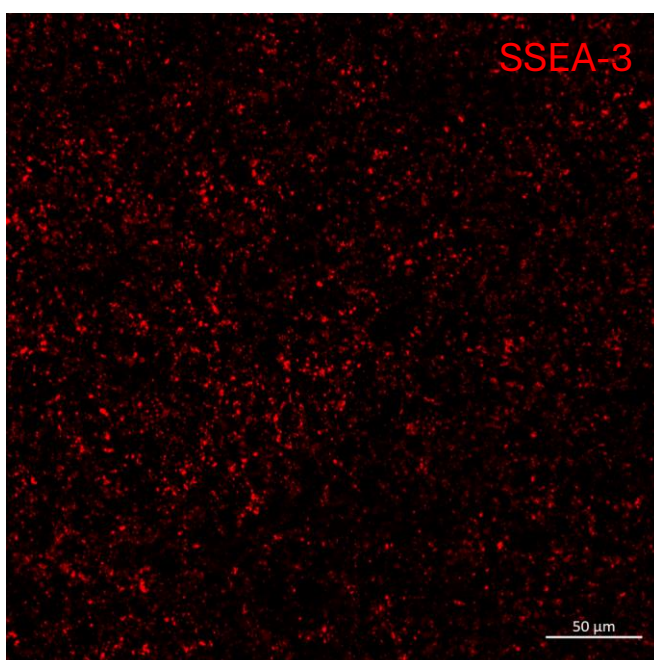
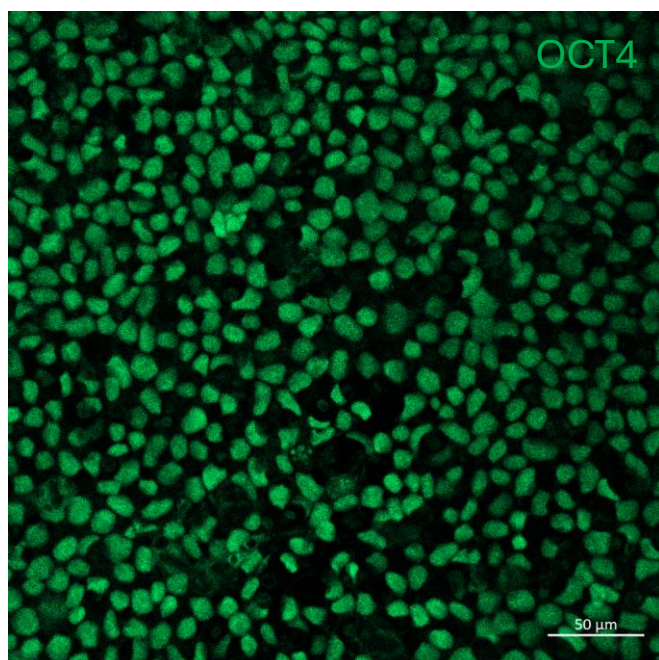


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



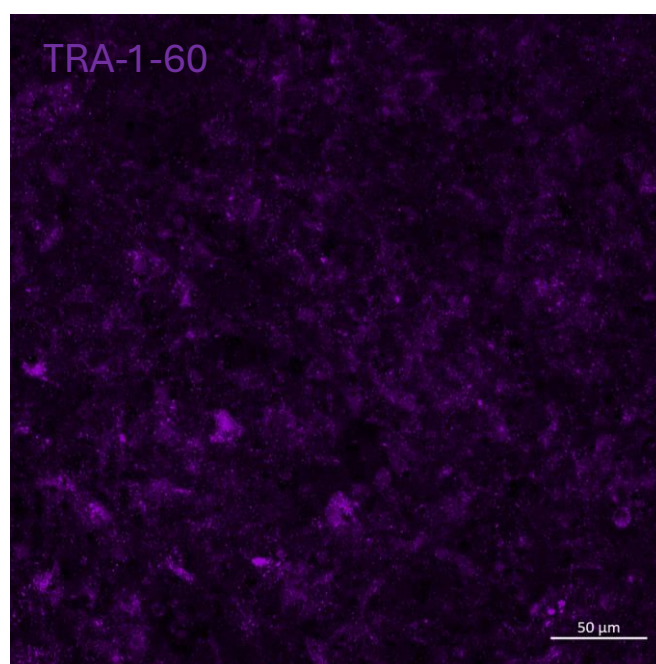
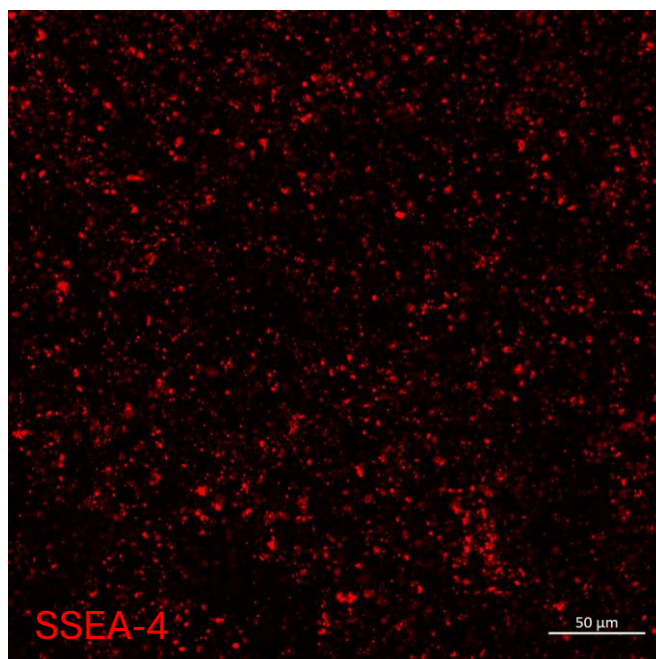
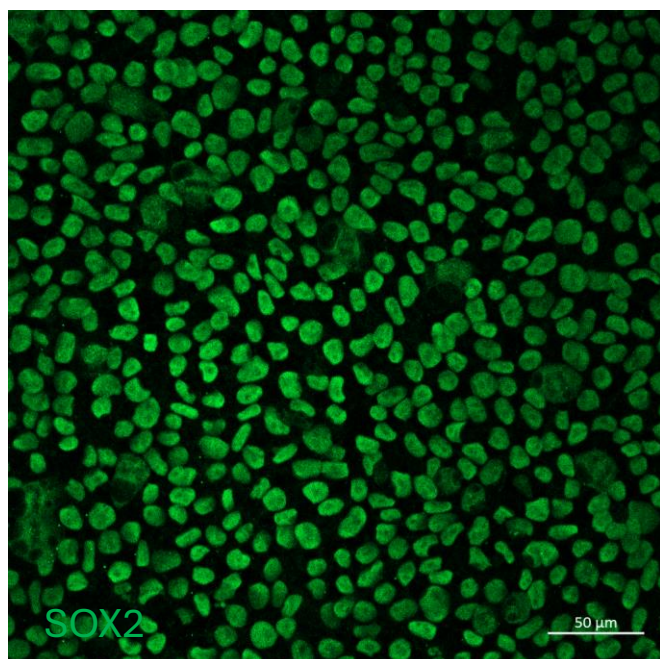
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



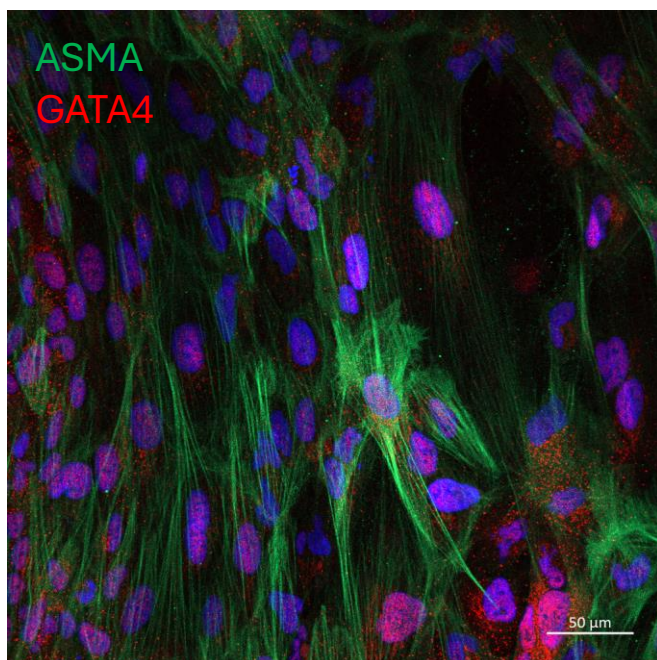
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

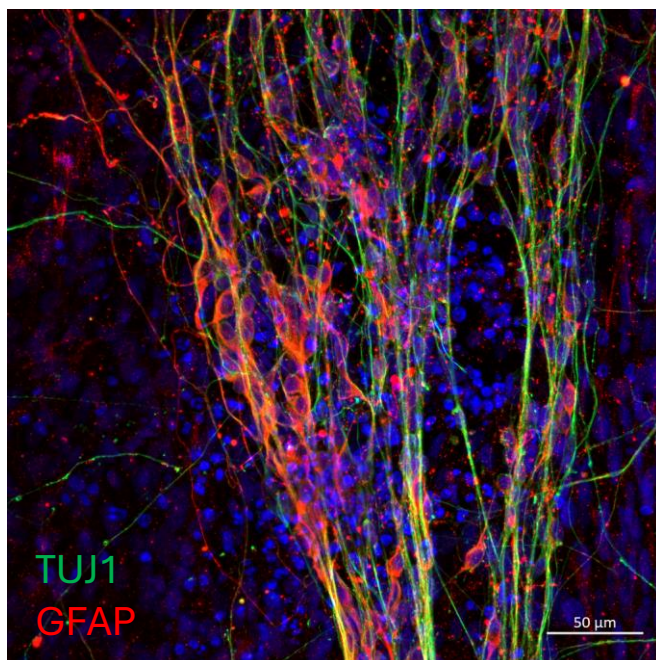


Anexo 2

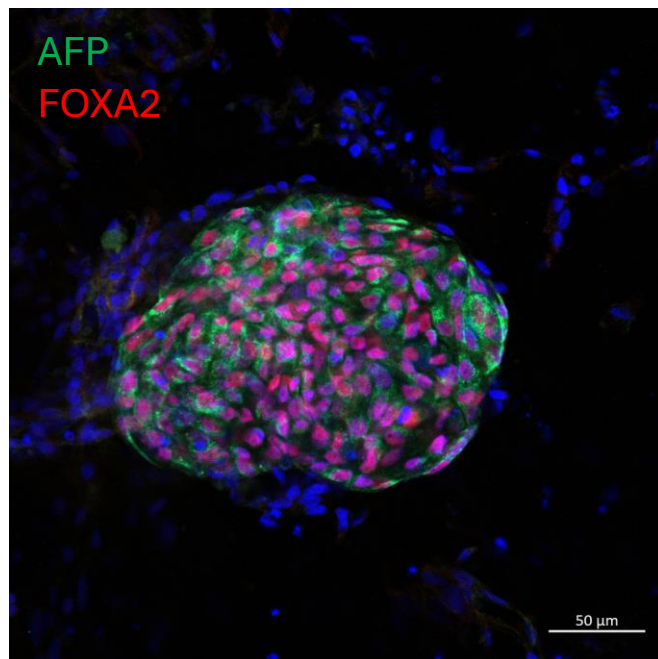
Diferenciación *in vitro*



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: 32340687

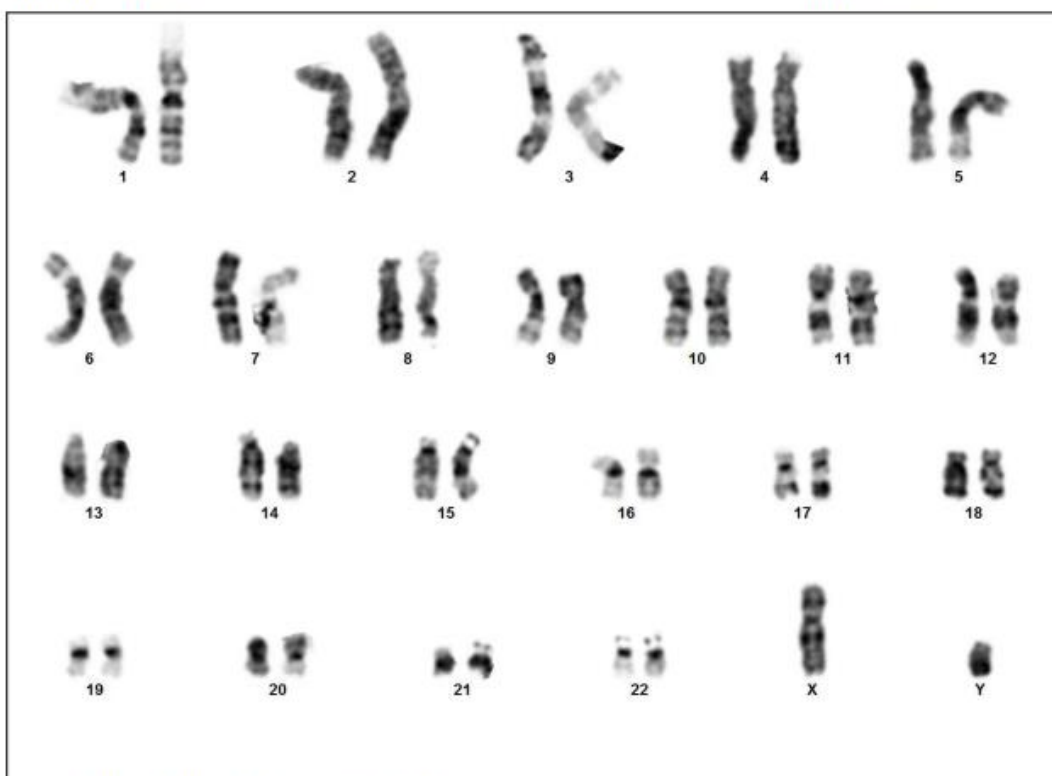
Name: S PBiPS654-Sv4F-8 p9

NHC: CT0642

Department: IDIBELL

Date: 8/28/2023

Sample: CM



Case: 32340687 Slide: 2 Cell: 4F

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>
	S PBIPS654-SV4F-8 P12	1221773	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 1221773	
D8S1179	8	14	15
D21S11	21q11.2-q21	28	30
D7S820	7q11.21-22	9	11
CSF1PO	5q33.3-34	11	12
D3S1358	3p	16	16
TH01	11p15.5	6	9
D13S317	13q22-31	9	11
D16S539	16q24-qter	11	13
D2S1338	2q35-37.1	19	20
D19S433	19q12-13.1	14	15,2
VWA	12p12-pter	17	17
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	12	16
D5S818	5q21-31	11	13
FGA	4q28	21	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, 09/10/2023



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra: **Identificació** **ID Ambar** **Tipus de mostra**
 PERIPHERAL BLOOD BM654-M001, 07.06.23 1221742 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 1221742	
D8S1179	8	14	15
D21S11	21q11.2-q21	28	30
D7S820	7q11.21-22	9	11
CSF1PO	5q33.3-34	11	12
D3S1358	3p	16	16
TH01	11p15.5	6	9
D13S317	13q22-31	9	11
D16S539	16q24-qter	11	13
D2S1338	2q35-37.1	19	20
D19S433	19q12-13.1	14	15,2
VWA	12p12-pter	17	17
TPOX	2p23-2per	8	8
D18S51	18q21.3	12	16
D5S818	5q21-31	11	13
FGA	4q28	21	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, 04/07/2023



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



Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0

09/08/23

1. POSITIVE CONTROL
2. S PBiPS654-Sv4F-1 p8
3. S PBiPS654-Sv4F-4 p8
4. S PBiPS654-Sv4F-8 p7
5. S PBiPS654-Sv4F-10 p6
6. Sample NO RT
7. NEGATIVE CONTROL
8. H2O

Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



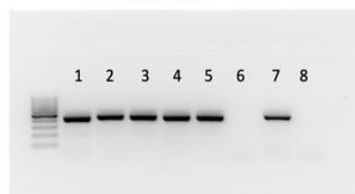
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



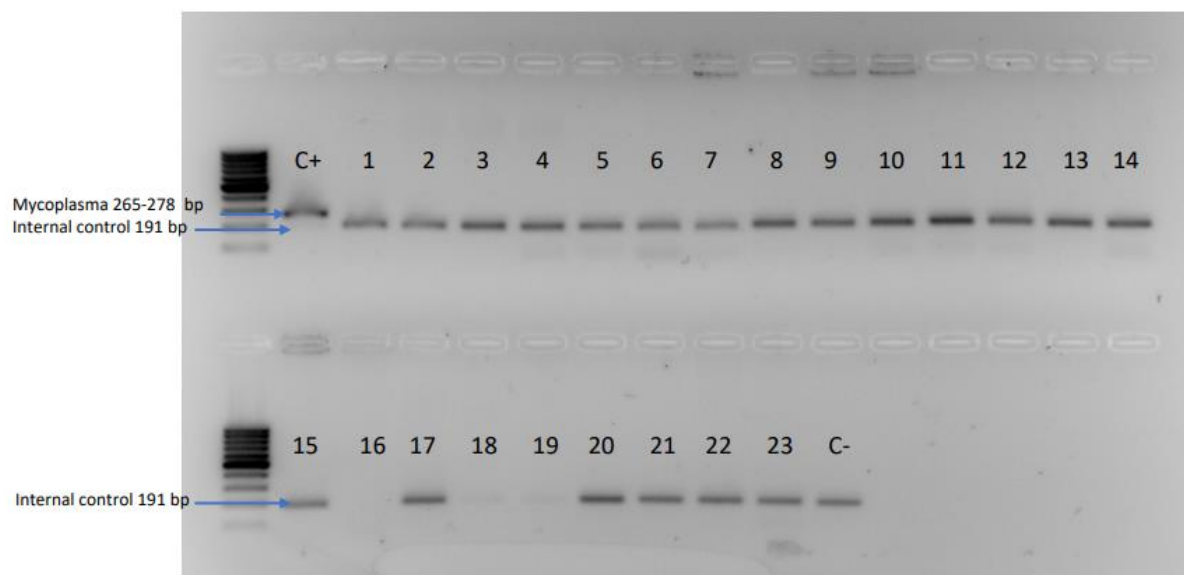
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

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



8. S PBiPS654-Sv4F-8 p10