



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **Ctrl FiPSCTL2-Ep6F-9** 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

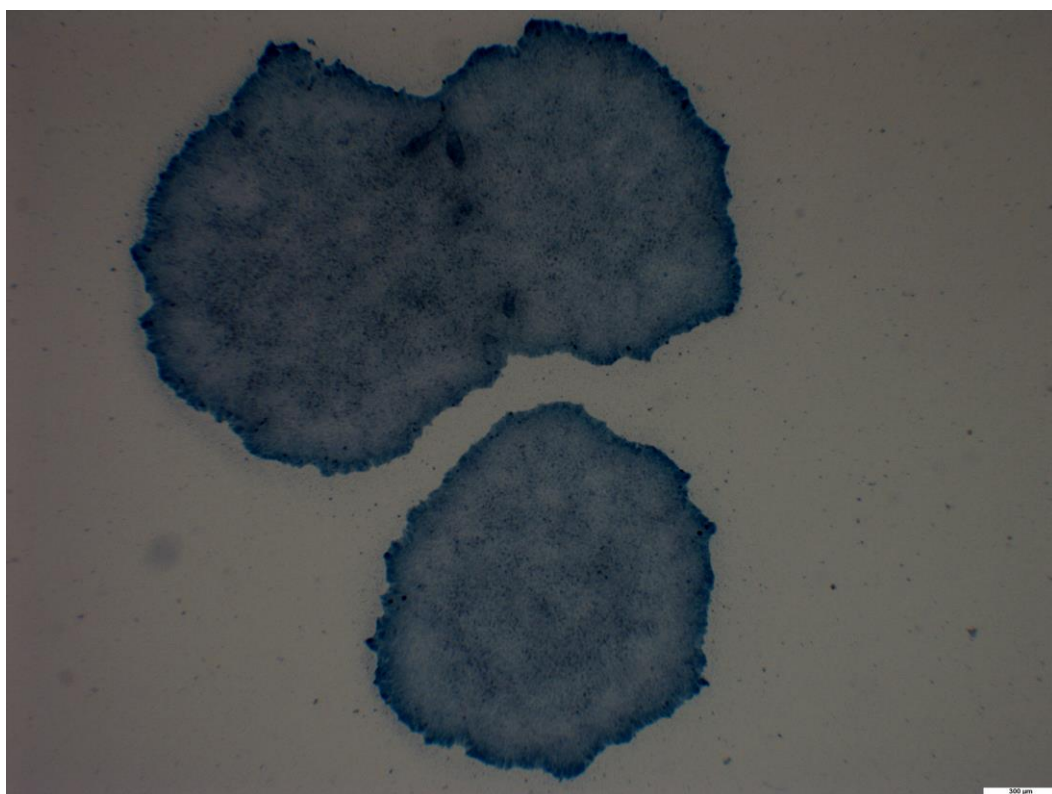
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma



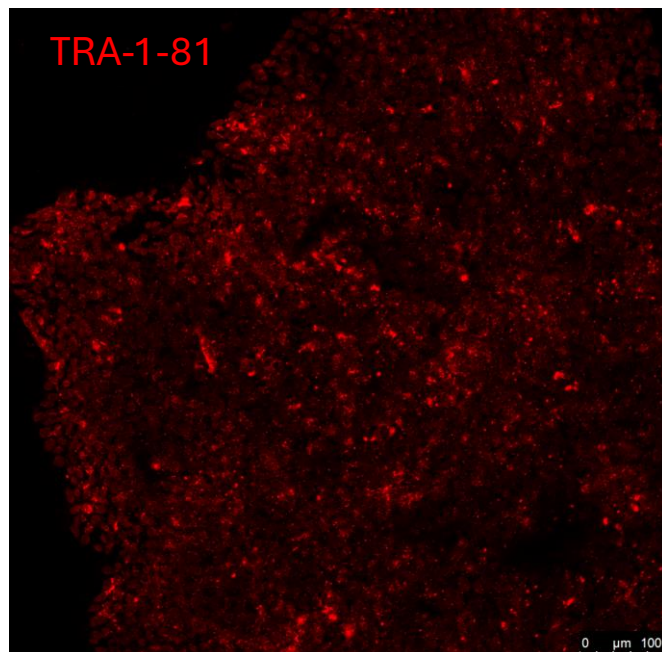
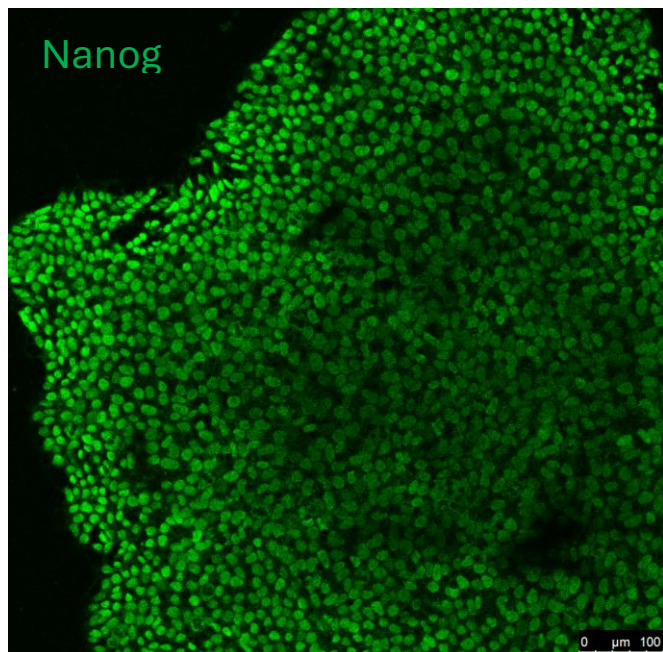
Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia



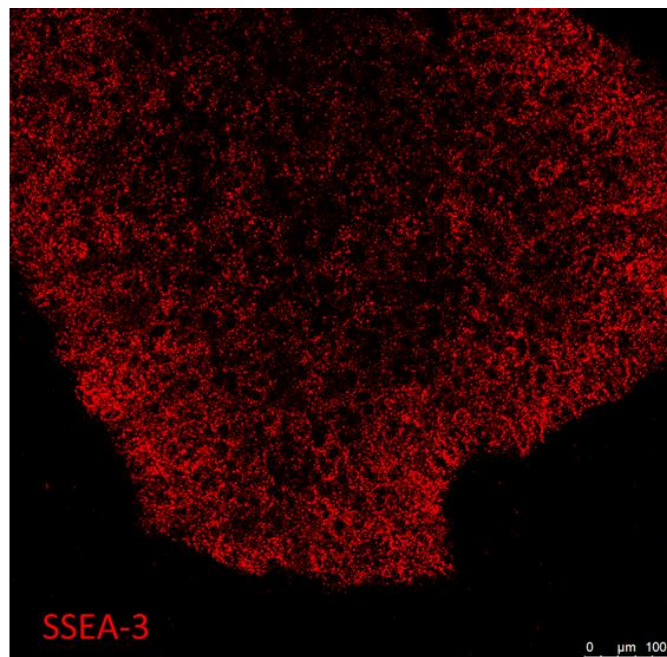
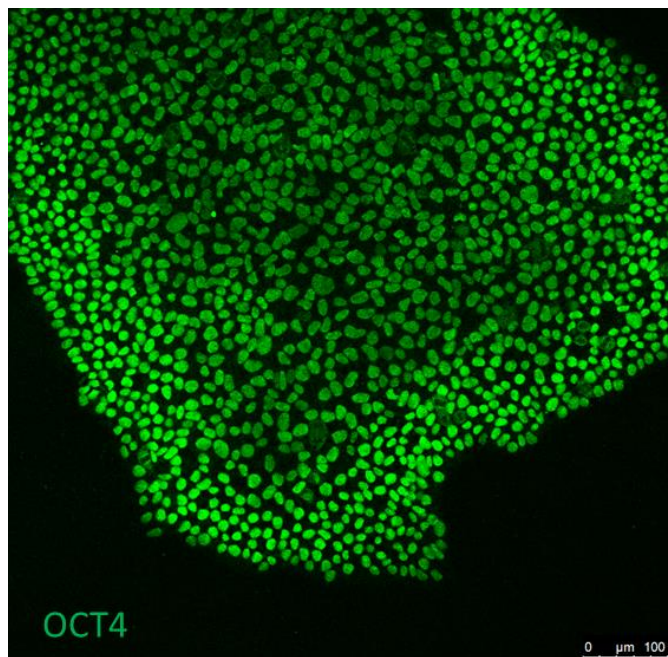
Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes

Ctrl FiPCTL2-Ep6F-9



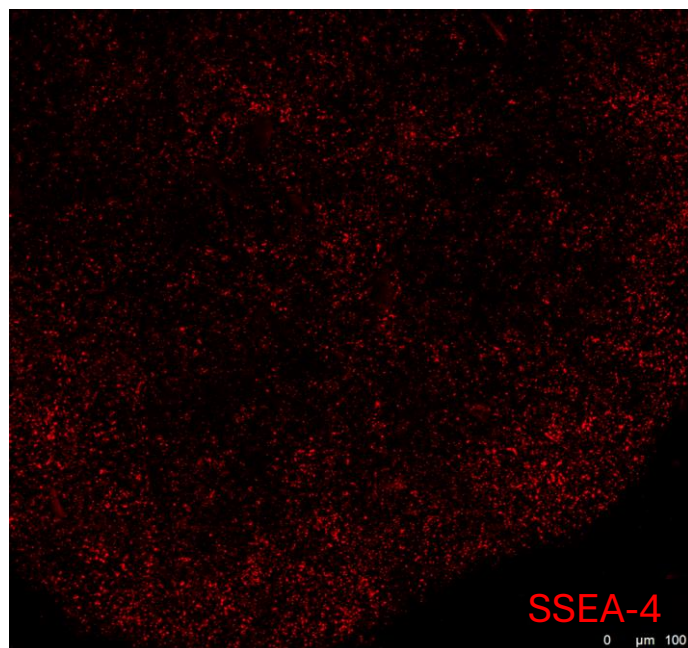
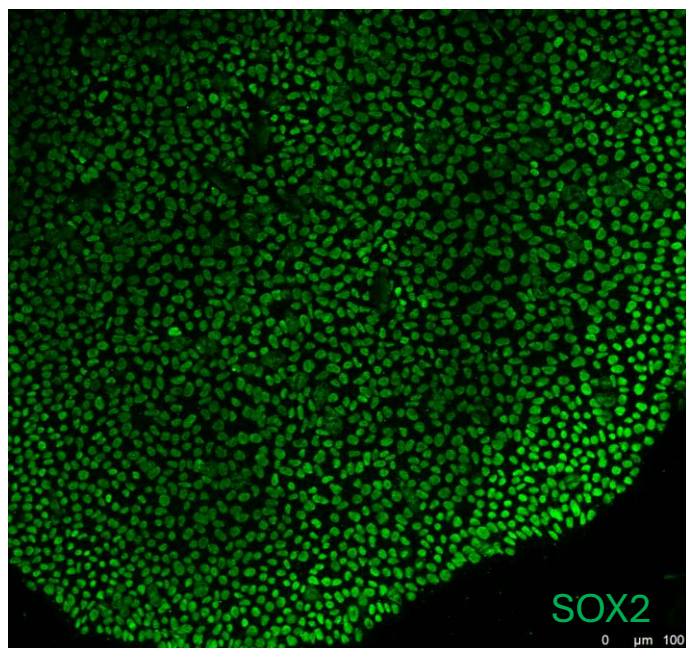
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



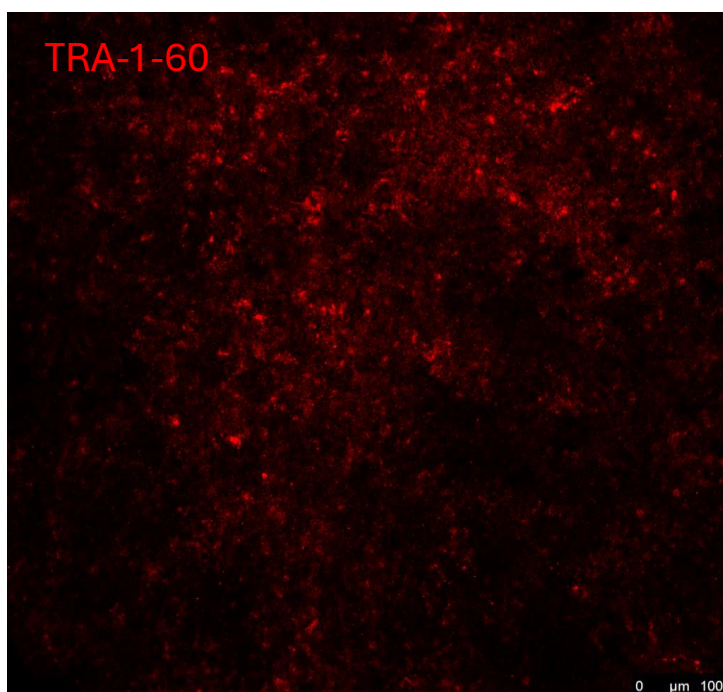
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2 y SSEA-4



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

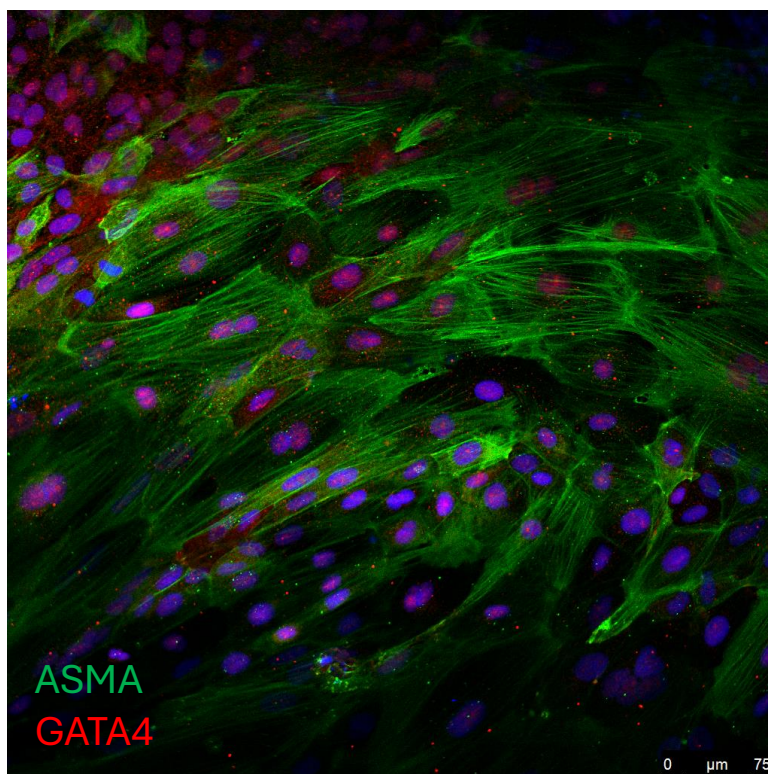
TRA1-60

Ctrl FiPSCTL2-Ep6F-9

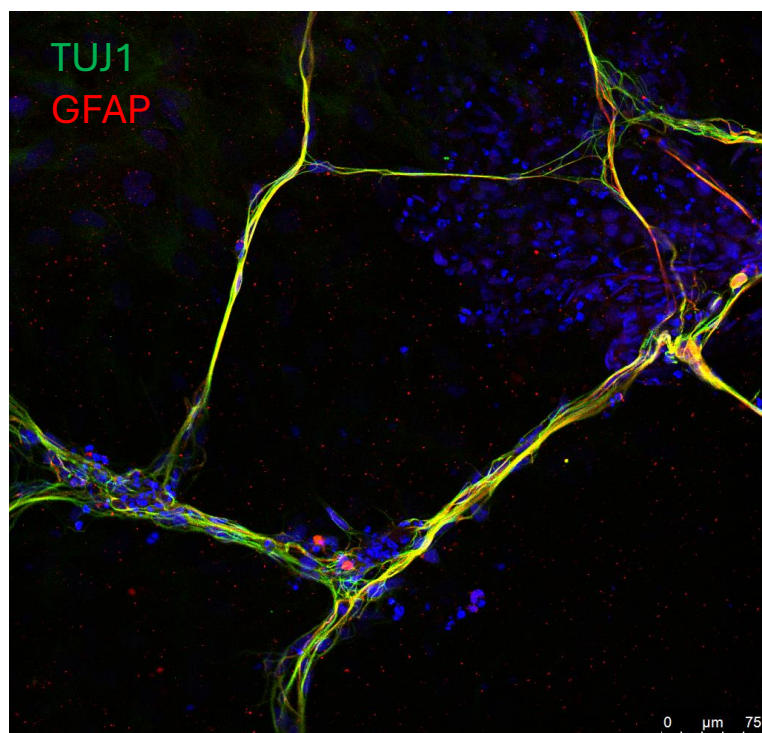


Anexo 2

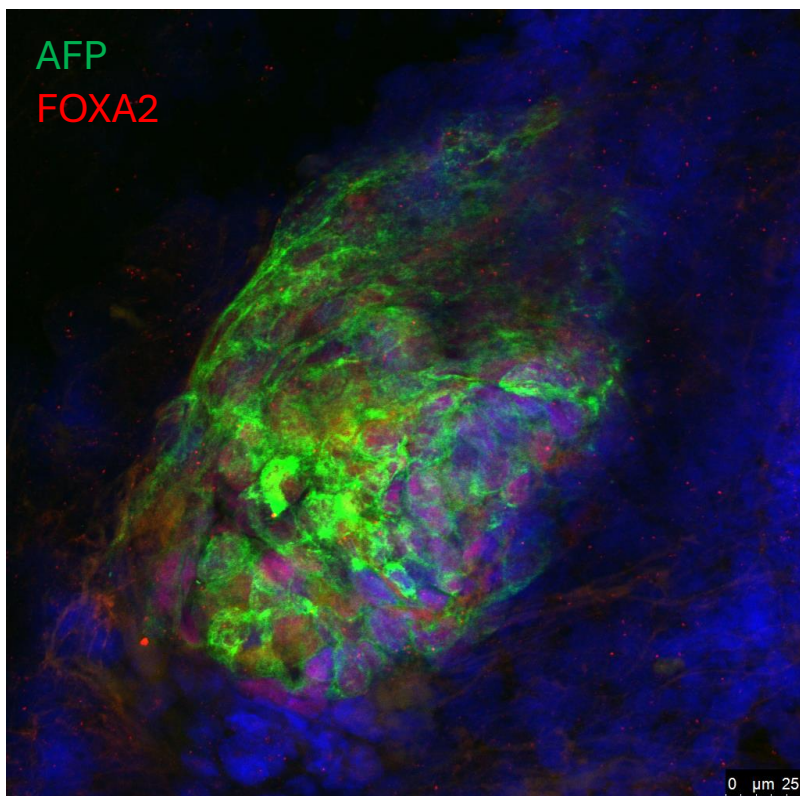
Diferenciación *in vitro*



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: 41350651

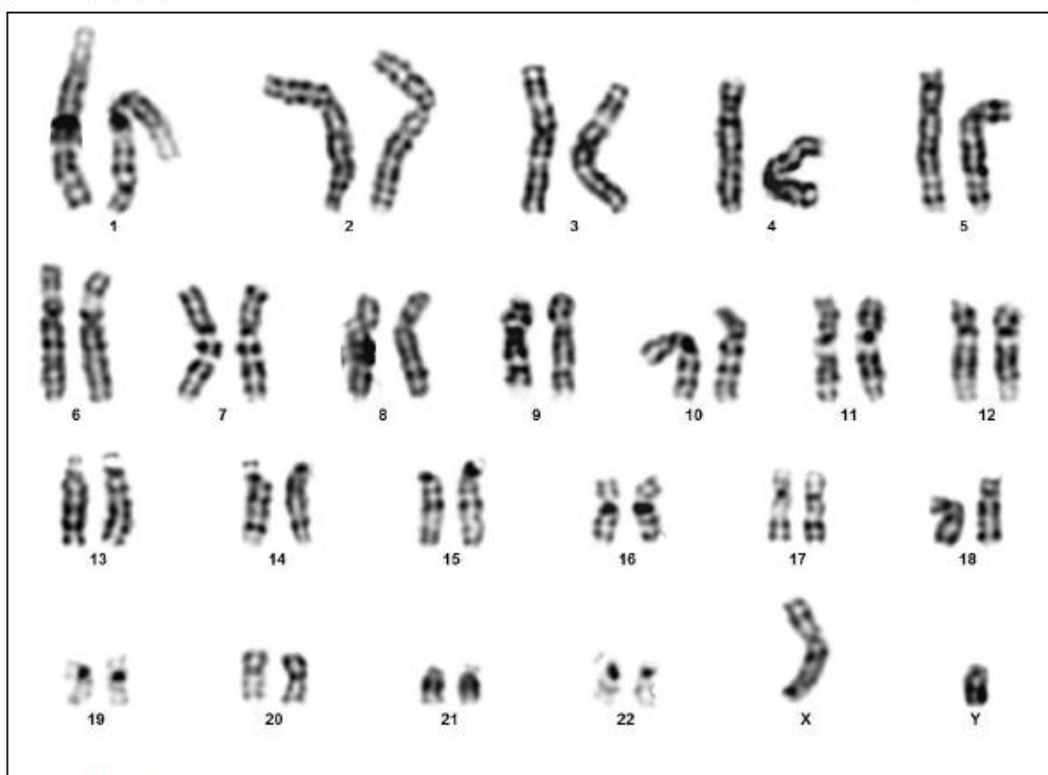
Name: CTRL FiPSCTL2-Ep6F-9 p11

NHC: CT0794

Department: IDIBELL

Date: 6/5/2024

Sample: CM



Case: 41350651 Slide: 1 Cell: 3F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

Mostra:	Identificació	ID Ambar	Tipus de mostra
CTRL FIPSC2L2-EP6F-9 P11		1335125	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 1335125	
D8S1179	8	13	15
D21S11	21q11.2-q21	29	31,2
D7S820	7q11.21-22	11	12
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	16	18
TH01	11p15.5	7	9,3
D13S317	13q22-31	12	12
D16S539	16q24-qter	11	12
D2S1338	2q35-37.1	18	25
D19S433	19q12-13.1	16,2	17,2
VWA	12p12-pter	17	17
TPOX	2p23-2per	8	10
D18S51	18q21.3	15	17
D5S818	5q21-31	12	12
FGA	4q28	25	26
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, 24/07/2024



Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

ESTUDI DE MICROSATÈL·LITS (STRs)

<u>Mostra:</u>	<u>Identificació</u> FBCTL2, P5 0,32M CELLS, 11.01.2023	<u>ID Ambar</u> 1221809	<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 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 1221809	
D8S1179	8	13	15
D21S11	21q11.2-q21	29	31.2
D7S820	7q11.21-22	11	12
CSF1PO	5q33.3-34	10	12
D3S1358	3p	16	18
TH01	11p15.5	7	9.3
D13S317	13q22-31	12	12
D16S539	16q24-qter	11	12
D2S1338	2q35-37.1	18	25
D19S433	19q12-13.1	16.2	17.2
VWA	12p12-pter	17	17
TPOX	2p23-2per	8	10
D18S51	18q21.3	15	17
D5S818	5q21-31	12	12
FGA	4q28	25	26
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, 06/02/2024

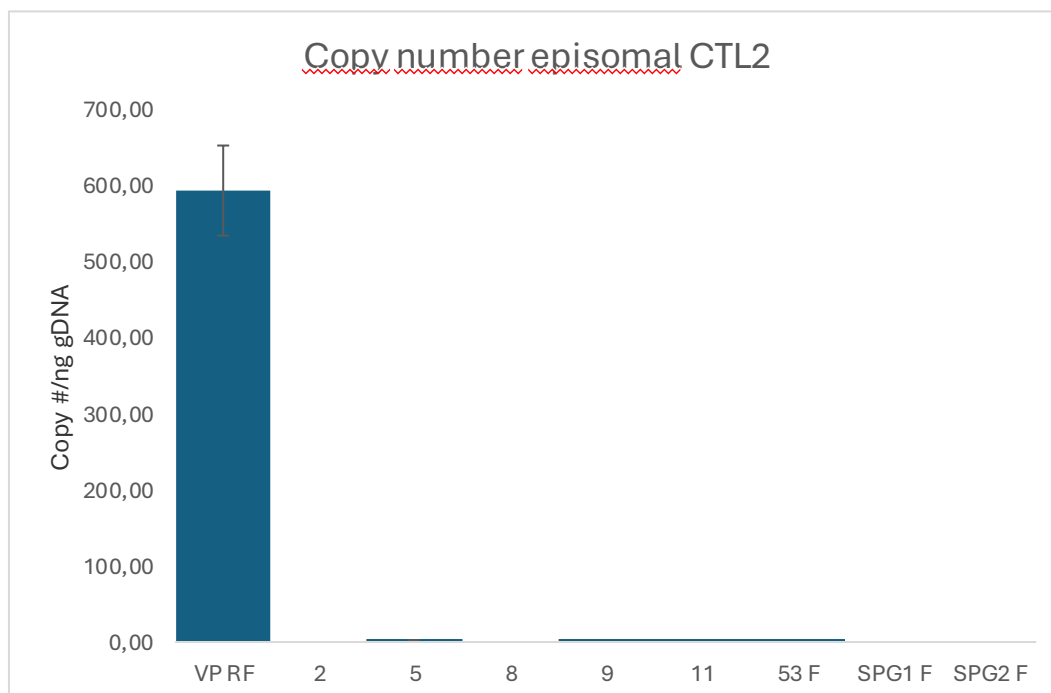


Dr. J.V.Martinez Mas
Director de Laboratorio

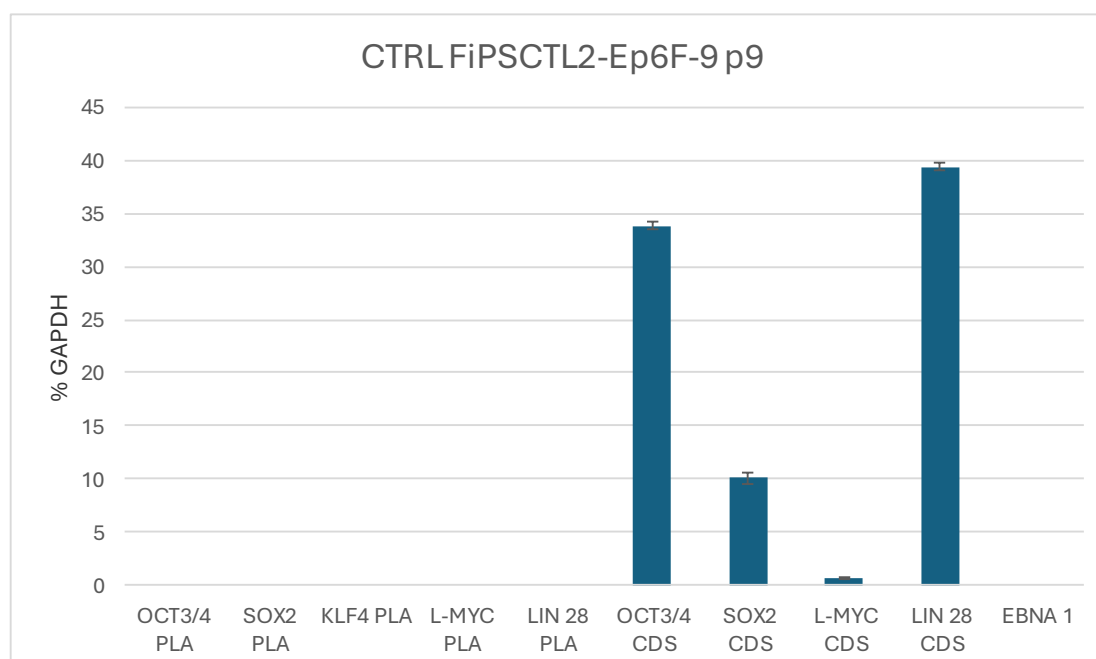
Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en los fibroblastos de los que procede.

Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación



QRT-PCR donde se muestra la ausencia de plásmidos episomales en diversos clones de la línea de iPSC, 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**)



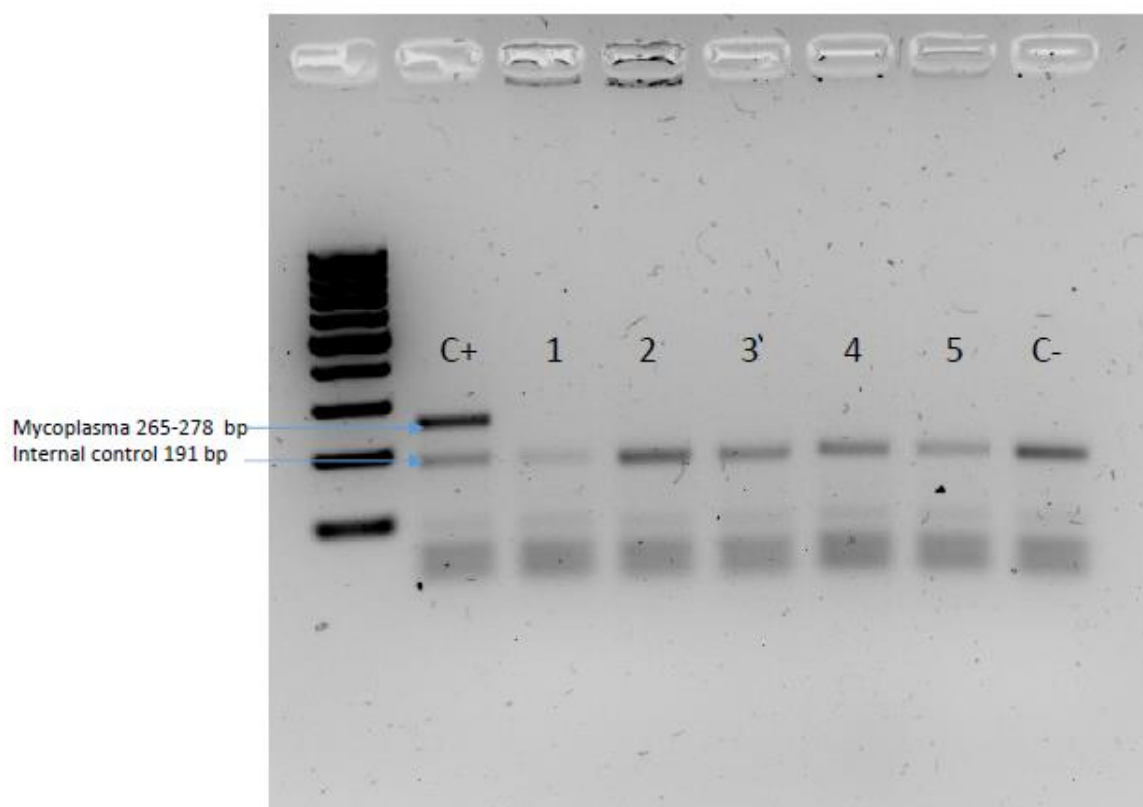
Niveles de expresión de mRNA de transgenes (pla) y marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) en la línea **CTRL FiPSCTL2-Ep6F-9**



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 27/06/2024



5. CTRL FiPS CTL2-Ep6F-9 p10