



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR **S PBiPS1785-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

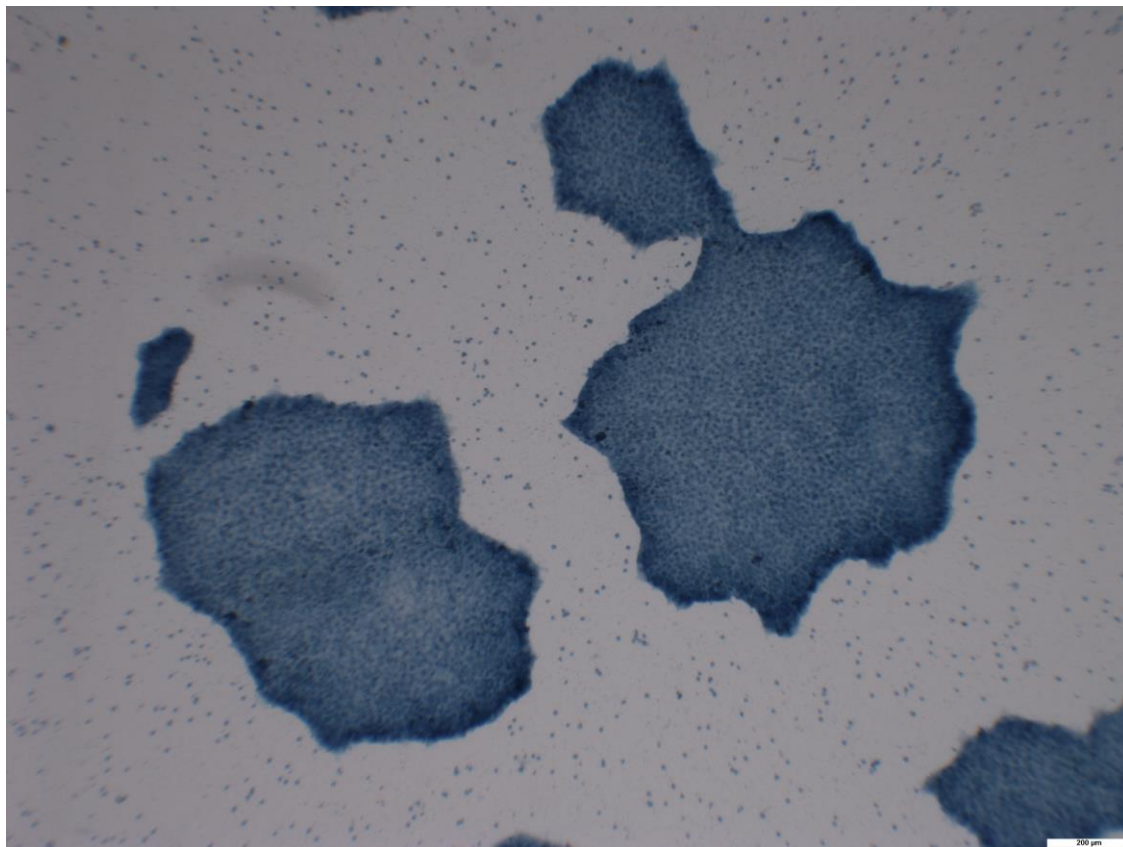
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

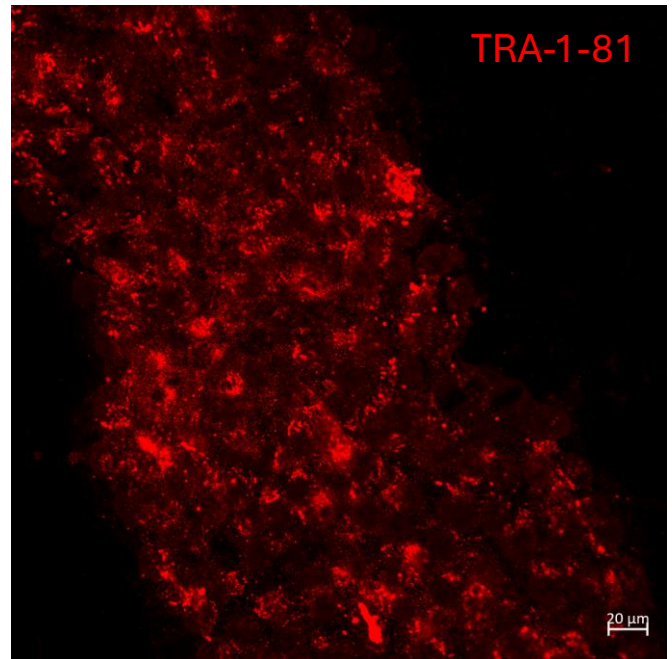
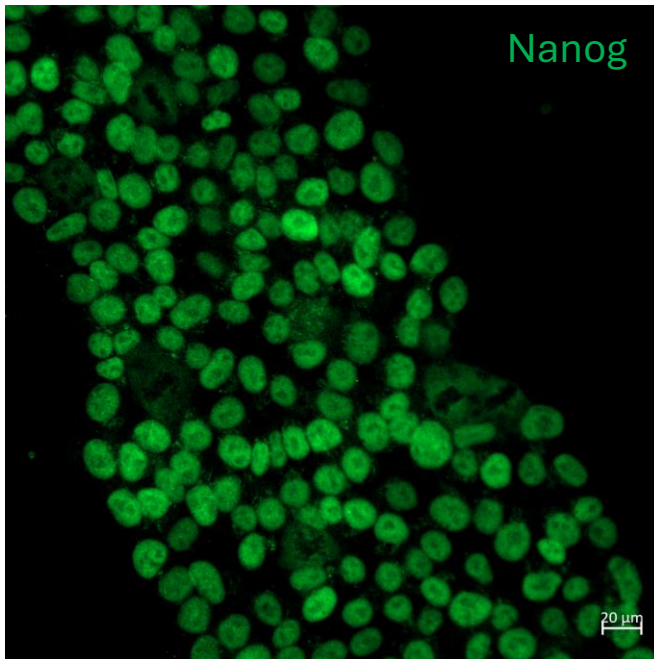


## **Anexo 1**

### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**

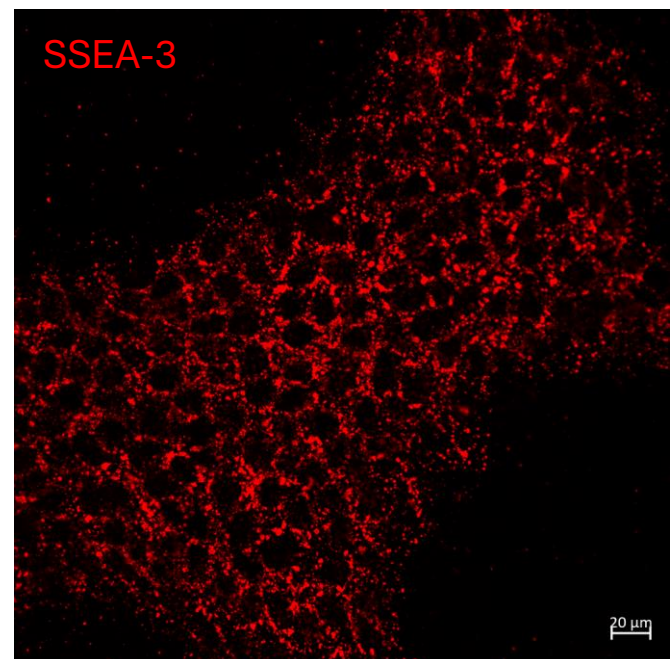
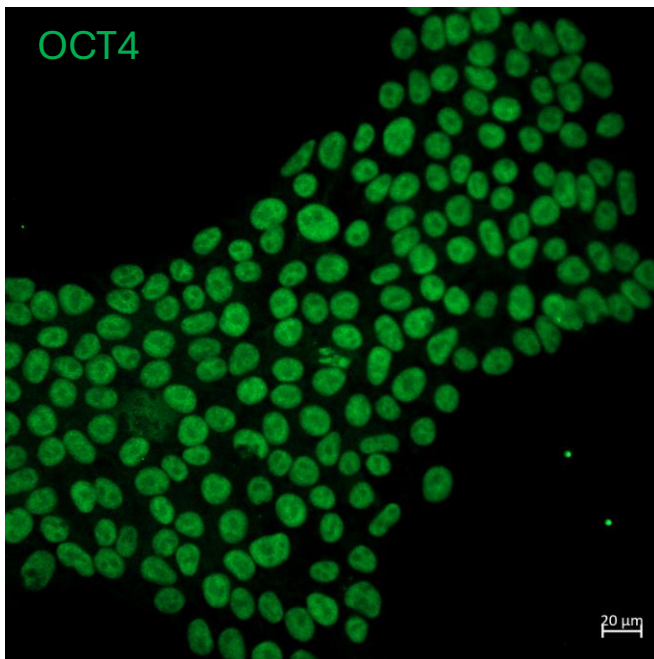


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

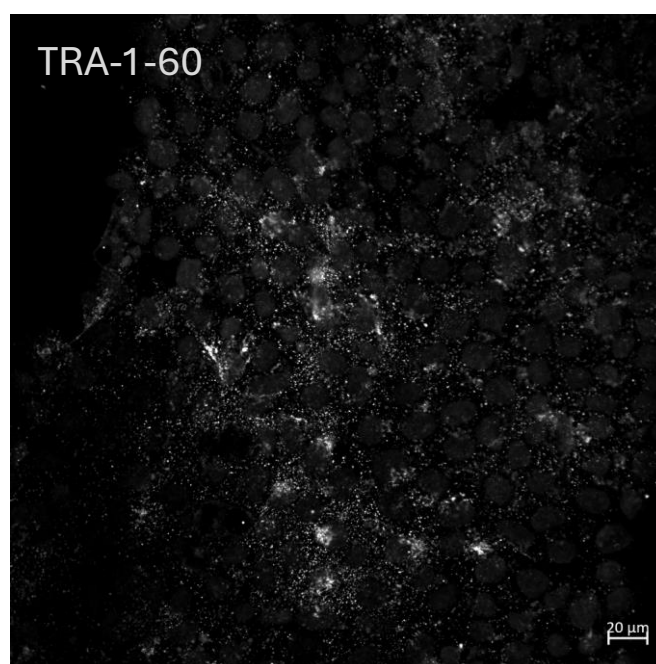
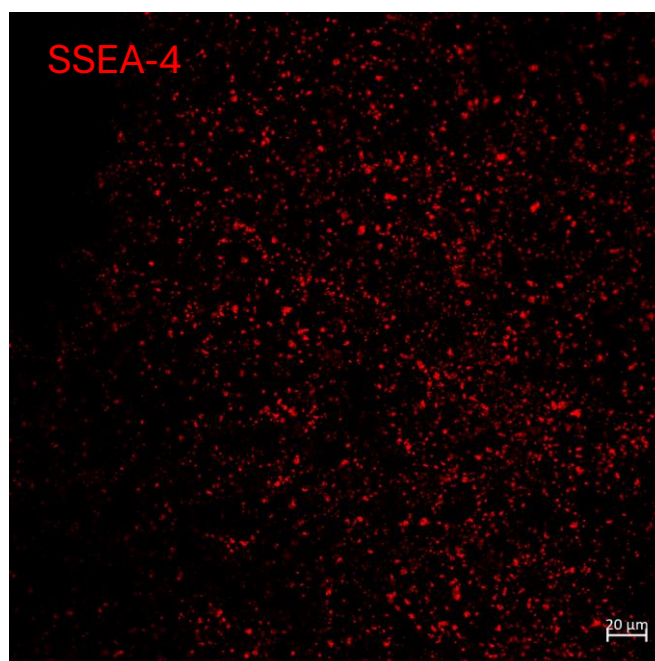
**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**





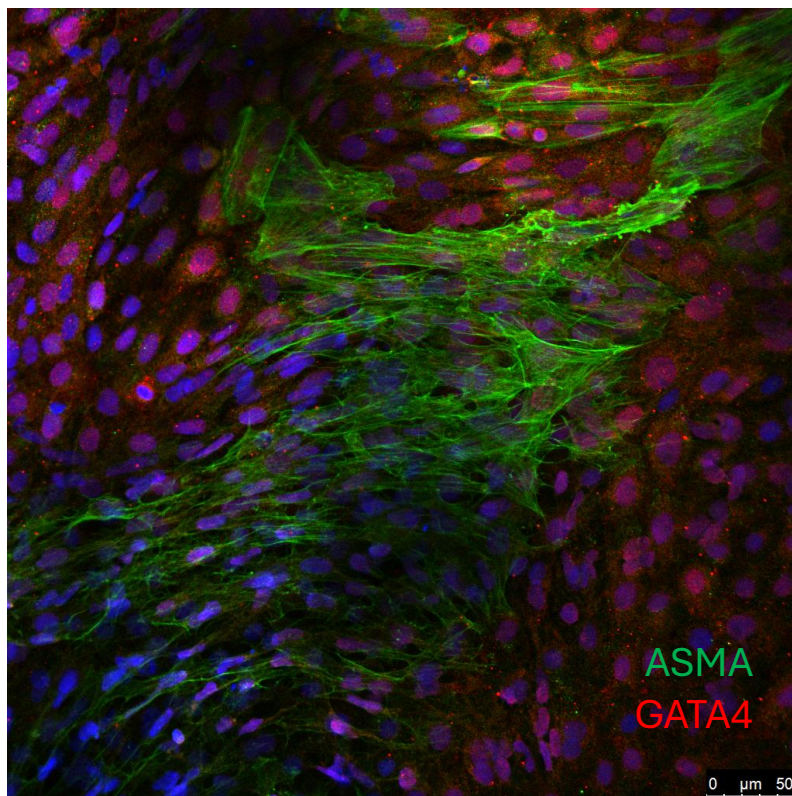
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

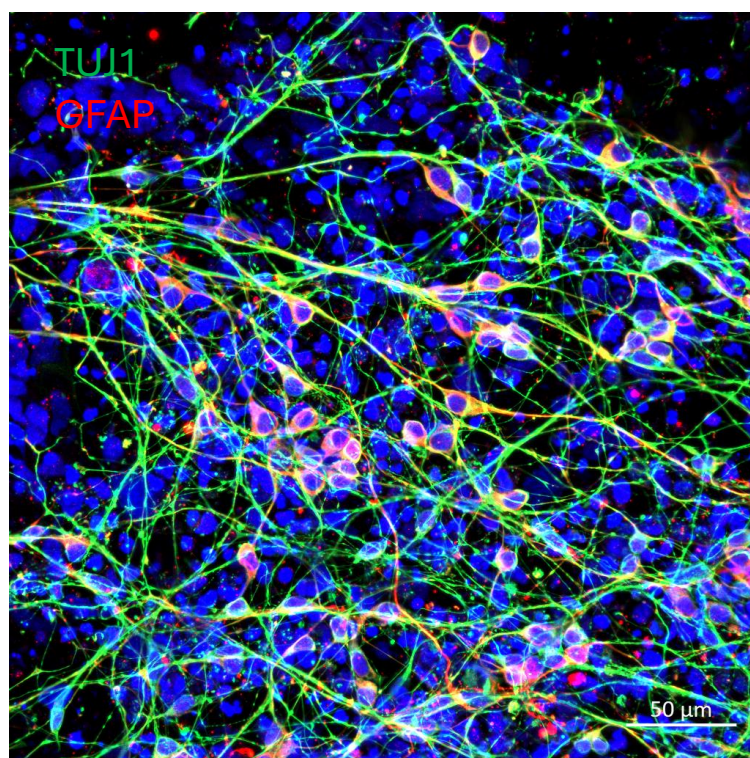


## **Anexo 2**

### **Diferenciación *in vitro***

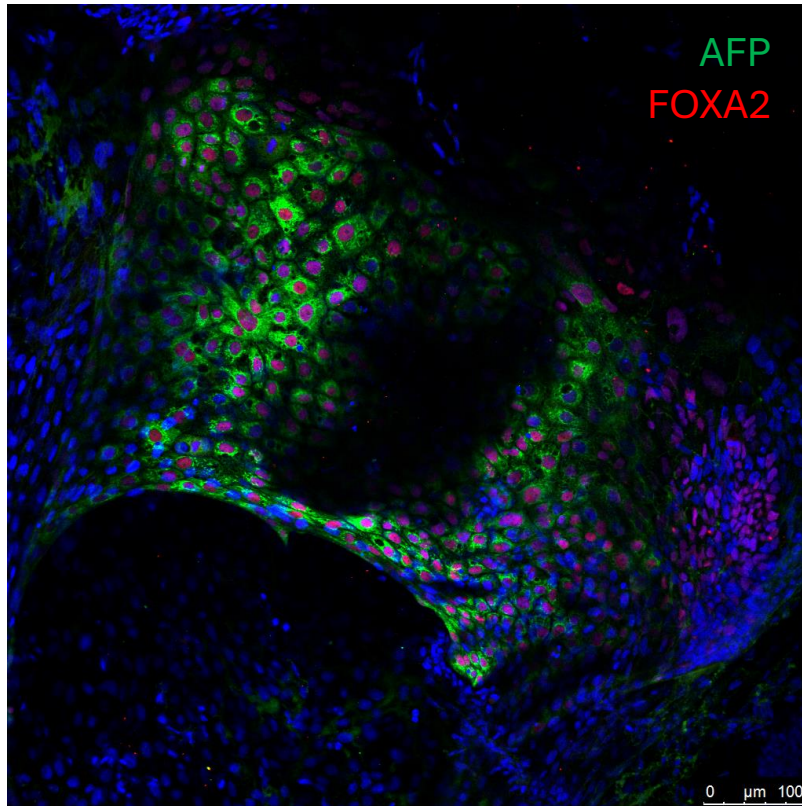


Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA** y **GATA4**



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: 32720889  
Name: S PBiPS1785-Sv4F-8 p11  
NHC: CT0668

Department: IDIBELL  
Date: 10/19/2023  
Sample: CM



Case: 32720889 Slide: 1 Cell: 1

Result: 46,XX



## **Anexo 4**

### **Resultado microsatélites**

### ESTUDI DE MICROSATÈL-LITS (STRs)

|                        |                        |                 |                        |
|------------------------|------------------------|-----------------|------------------------|
| <b>Mostra:</b>         | <b>Identificació</b>   | <b>ID Ambar</b> | <b>Tipus de mostra</b> |
| S_PBIPS1785_SV4F-8 P13 | S_PBIPS1785_SV4F-8 P13 | 1221797         | 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® 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<br>1221797 |     |
|--------------------|--------------------------|---------------------------|-----|
|                    |                          |                           |     |
| D8S1179            | 8                        | 12                        | 14  |
| D21S11             | 21q11.2-q21              | 29                        | 30  |
| D7S820             | 7q11.21-22               | 9                         | 12  |
| CSF1PO             | 5q33.3-34                | 11                        | 12  |
| D3S1358            | 3p                       | 15                        | 18  |
| TH01               | 11p15.5                  | 7                         | 9.3 |
| D13S317            | 13q22-31                 | 11                        | 12  |
| D16S539            | 16q24-qter               | 11                        | 11  |
| D2S1338            | 2q35-37.1                | 17                        | 24  |
| D19S433            | 19q12-13.1               | 14                        | 14  |
| VWA                | 12p12-pter               | 16                        | 16  |
| TPOX               | 2p23-2per                | 8                         | 8   |
| D18S51             | 18q21.3                  | 14                        | 15  |
| D5S818             | 5q21-31                  | 11                        | 12  |
| FGA                | 4q28                     | 23                        | 24  |
| AMELOGENINA*       | X: p22.1-22.3- Y: p11.2  | X                         | X   |

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

L'Hospitalet del Llobregat, 20/12/2023





### ESTUDI DE MICROSATÈL-LITS (STRs)

| <u>Mostra:</u> | <u>Identificació</u>   | <u>ID Ambar</u> | <u>Tipus de mostra</u> |
|----------------|------------------------|-----------------|------------------------|
|                | PBMB1785-M003,29.06.23 | 1221744         | 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® 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<br>1221744 |     |
|--------------------|--------------------------|---------------------------|-----|
|                    |                          |                           |     |
| D8S1179            | 8                        | 12                        | 14  |
| D21S11             | 21q11.2-q21              | 29                        | 30  |
| D7S820             | 7q11.21-22               | 9                         | 12  |
| CSF1PO             | 5q33.3-34                | 11                        | 12  |
| D3S1358            | 3p                       | 15                        | 18  |
| TH01               | 11p15.5                  | 7                         | 9,3 |
| D13S317            | 13q22-31                 | 11                        | 12  |
| D16S539            | 16q24-qter               | 11                        | 11  |
| D2S1338            | 2q35-37.1                | 17                        | 24  |
| D19S433            | 19q12-13.1               | 14                        | 14  |
| VWA                | 12p12-pter               | 16                        | 16  |
| TPOX               | 2p23-2per                | 8                         | 8   |
| D18S51             | 18q21.3                  | 14                        | 15  |
| D5S818             | 5q21-31                  | 11                        | 12  |
| FGA                | 4q28                     | 23                        | 24  |
| AMELOGENINA*       | X: p22.1-22.3- Y: p11.2  | X                         | X   |

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

L'Hospitalet del Llobregat, 26/07/2023



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

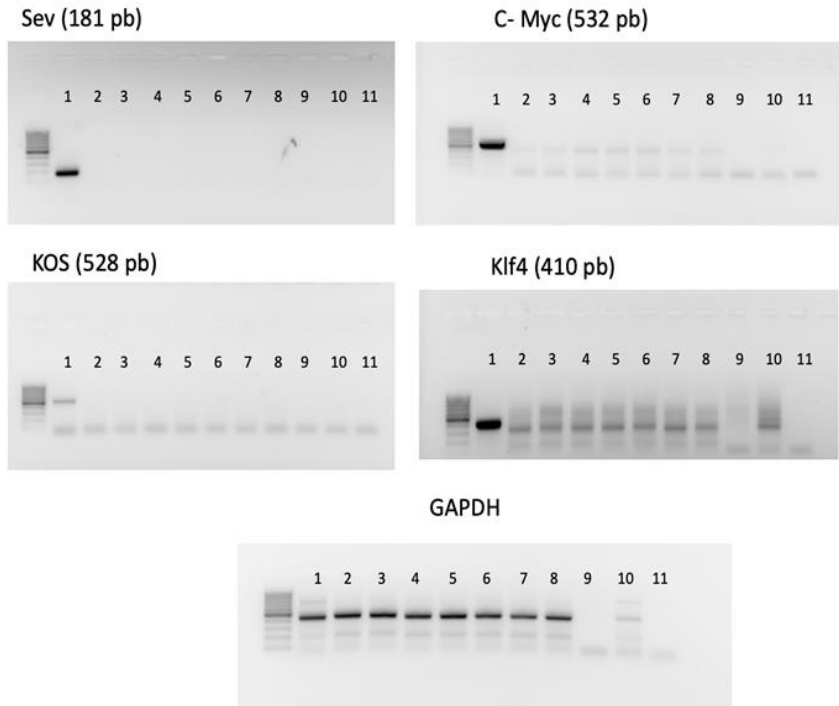


## **Anexo 5**

### **Ausencia de los transgenes de reprogramación**

**RT-PCR SENDAI 2.0**  
**14/09/2023**

1. POSITIVE CONTROL
2. S\_PBiPS1199\_Sv4F-2, p9
3. S\_PBiPS1199\_Sv4F-3, p9
4. S\_PBiPS1199\_Sv4F-4, p9
5. S\_PBiPS1199\_Sv4F-8, p9
6. S\_PBiPS1785\_Sv4F-1, p8
7. S\_PBiPS1785\_Sv4F-6, p8
8. S\_PBiPS1785\_Sv4F-8, p8
9. Sample NO RT
10. NEGATIVE CONTROL
11. H<sub>2</sub>O



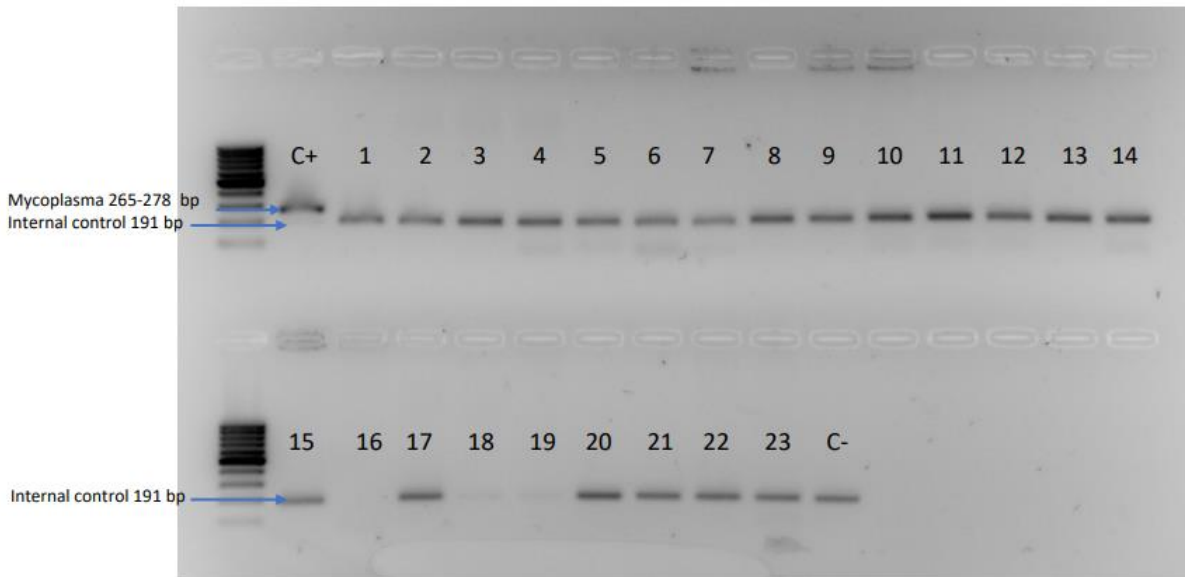
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



## **Anexo 6**

### **Resultado test de micoplasma**

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



14. S PBiPS1785-Sv4F-8 p8