



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **PPMS PBiPS10-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

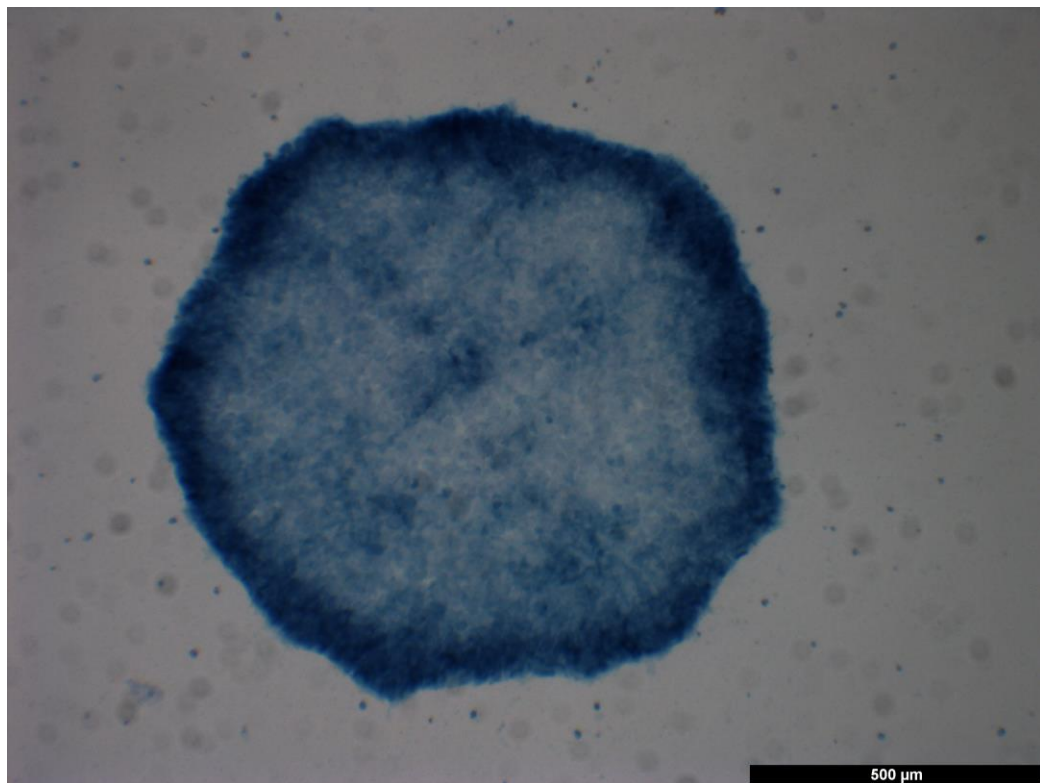
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

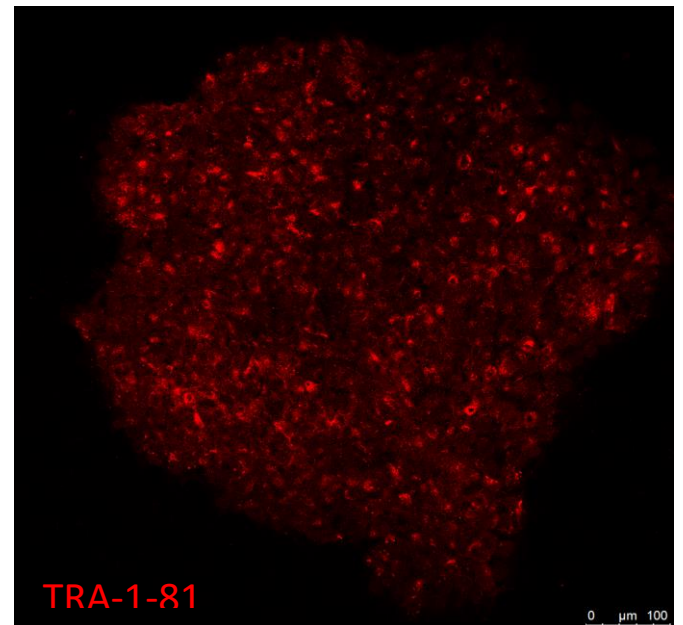
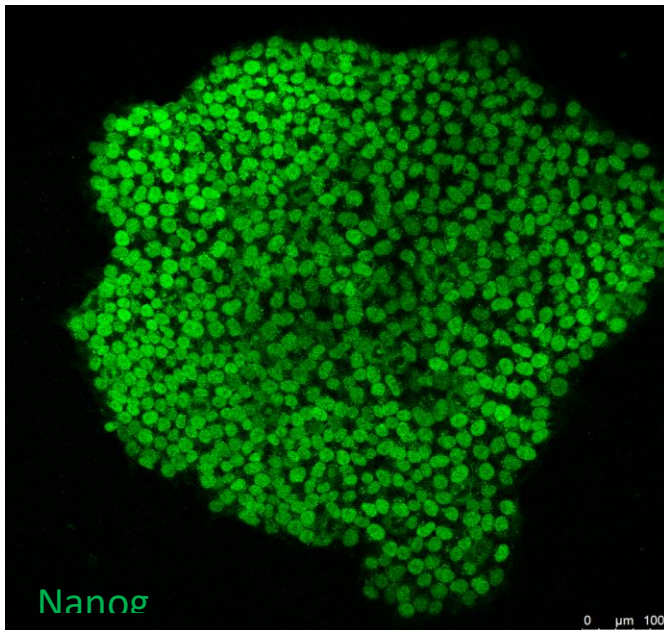


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

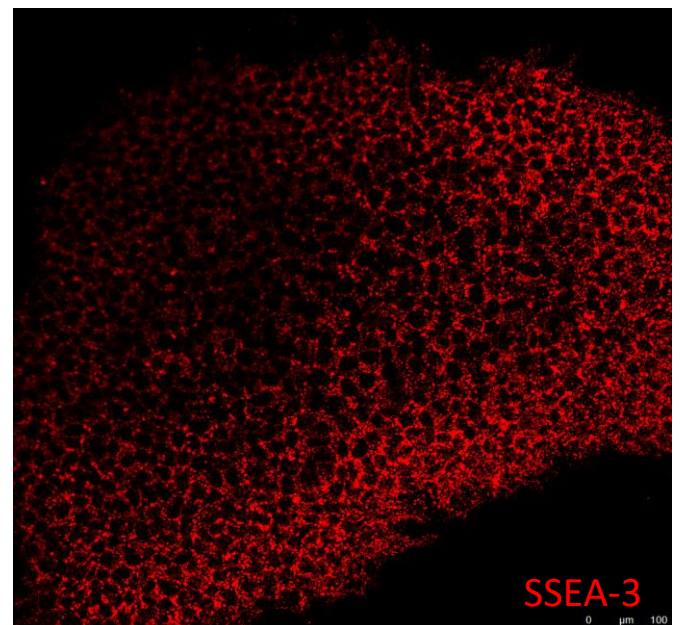
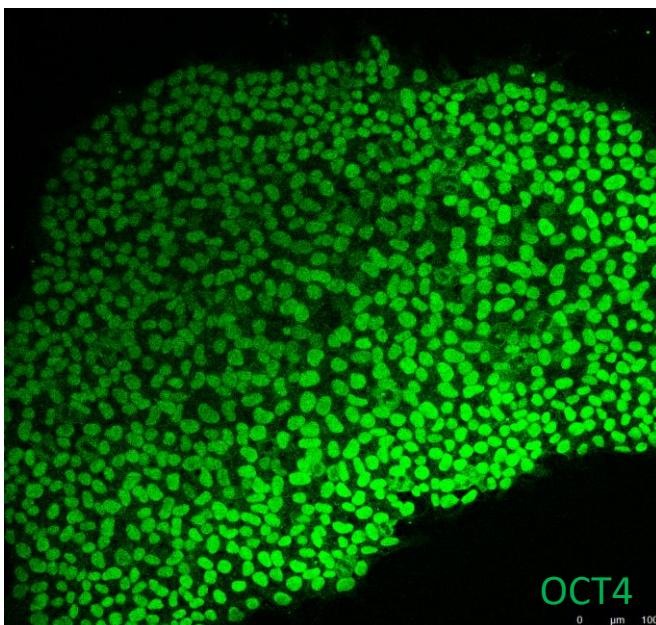


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



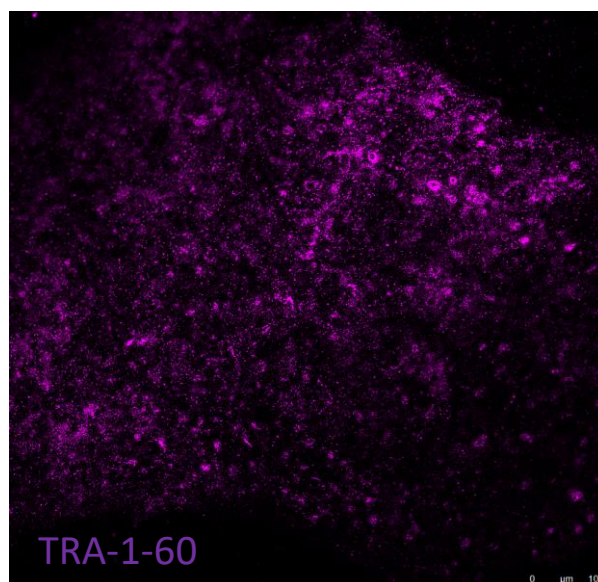
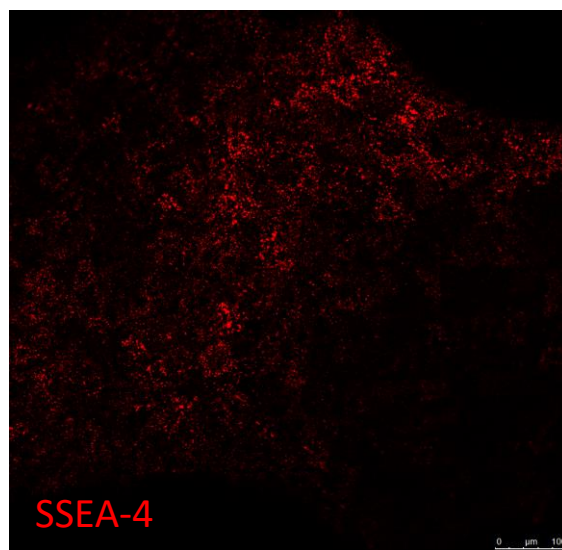
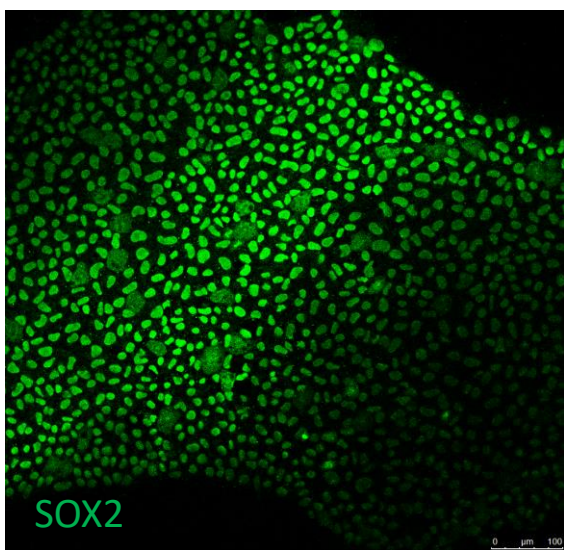
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



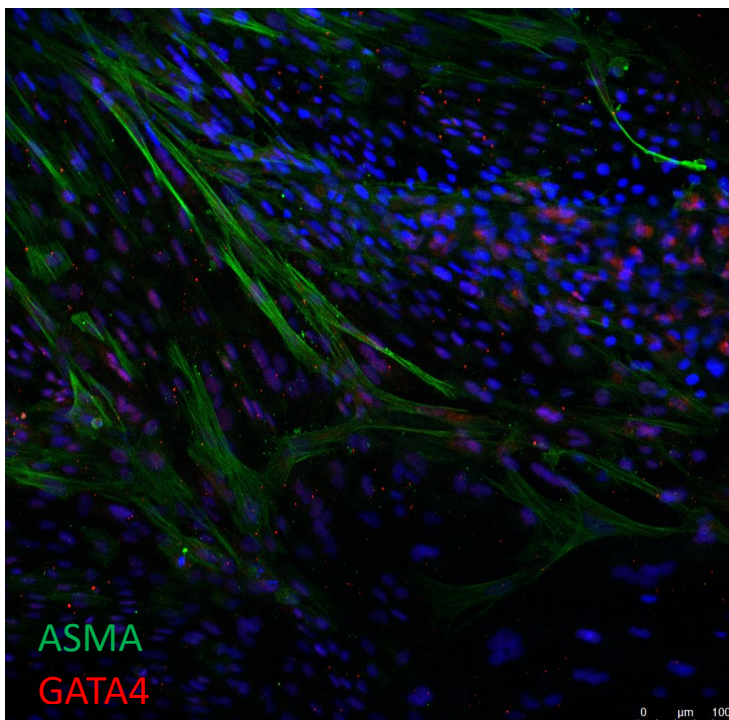
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

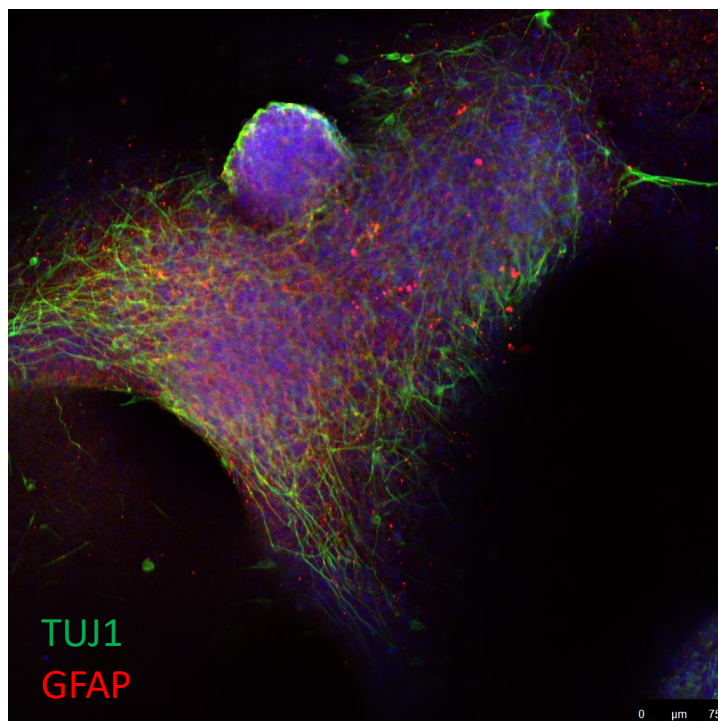


Anexo 2

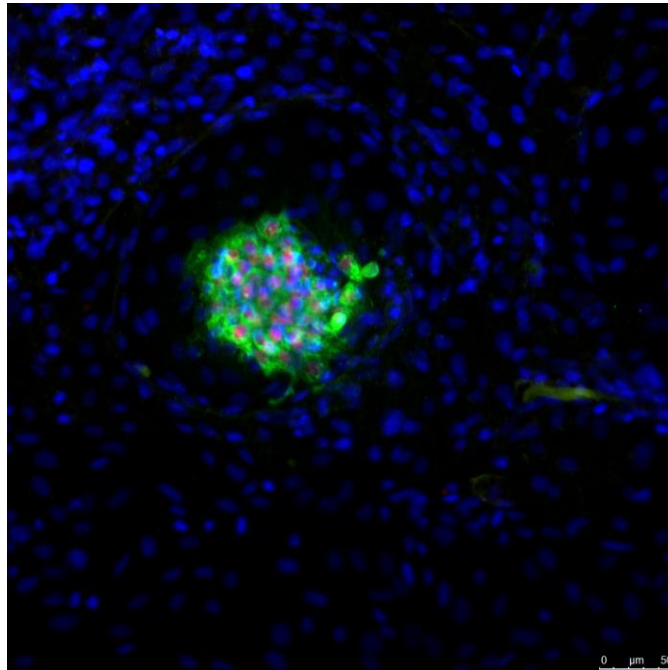
Diferenciación *in vitro*



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**



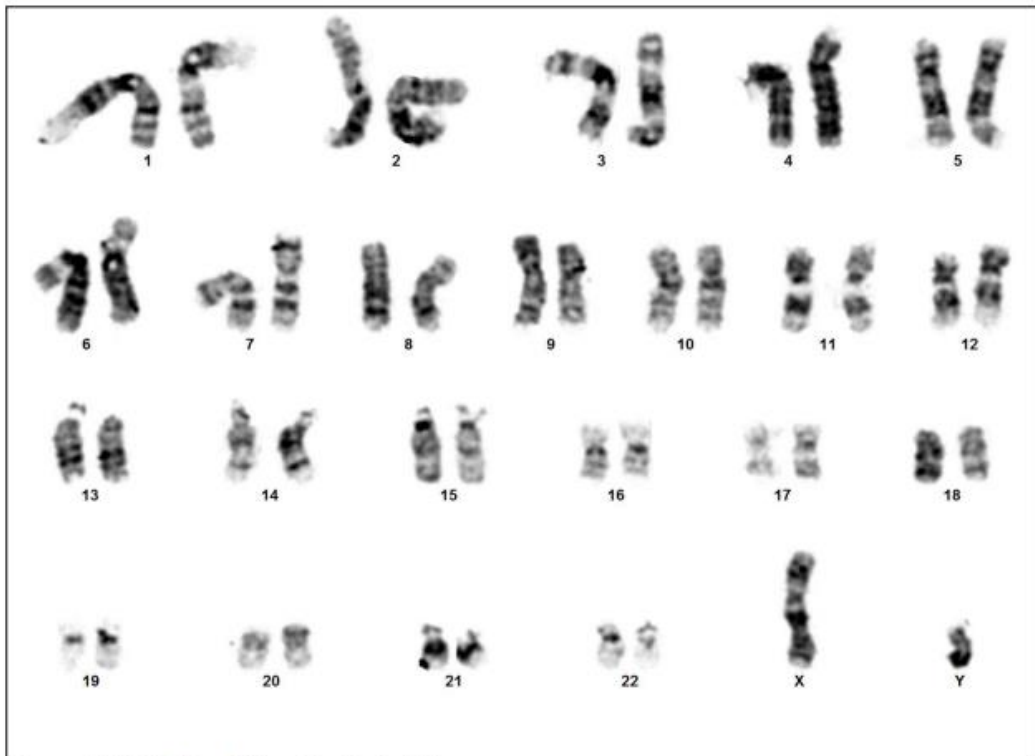
Anexo 3

Cariotipo

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 23070916
Name: PPMS PBiPS10-Sv4F-1 p15
NHC: CT0540

Department: IDIBELL
Sample: CM
Date: 11/14/2022



Case: 23070916 Slide: 2 Cell: 4F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

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
"Peripheral blood SAP 11728459, MS10, 06.04.22"	9.3	29; 33.2	11; 12	12	8; 12	11	11	X; Y	19; 22	9; 10

Barcelona, a 19 de mayo de 2022

Laboratorio Biología Molecular

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
PPMS PBiPS10-Sv4F-1 p16	9.3	29; 33.2	11; 12	12	8; 12	11	11	X; Y	19; 22	9; 10

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.

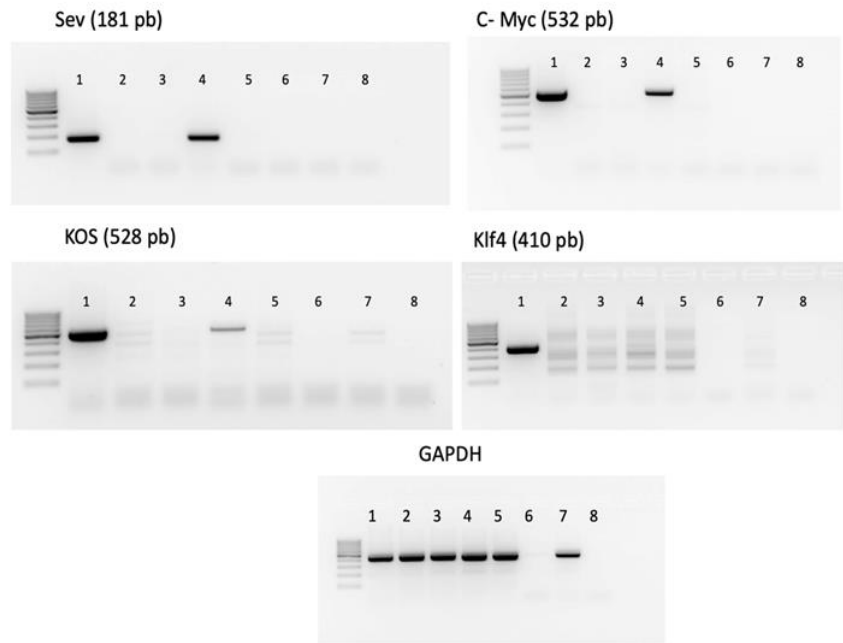


Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

RT-PCR SENDAI 2.0
10/08/2022

1. PMM2 FB20484 Sv-Inf, 0,5M cells, 16.02.2021
2. PPMS PBiPS10 Sv4F-1, P11, mg, 01.08.22
3. PPMS PBiPS10 Sv4F-3, P10, mg, 28.07.22
4. PPMS PBiPS10 Sv4F-4, P10, mg, 28.07.22
5. PPMS PBiPS10 Sv4F-6, P10, mg, 28.07.22
6. Sample NO RT
7. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL)
8. H2O



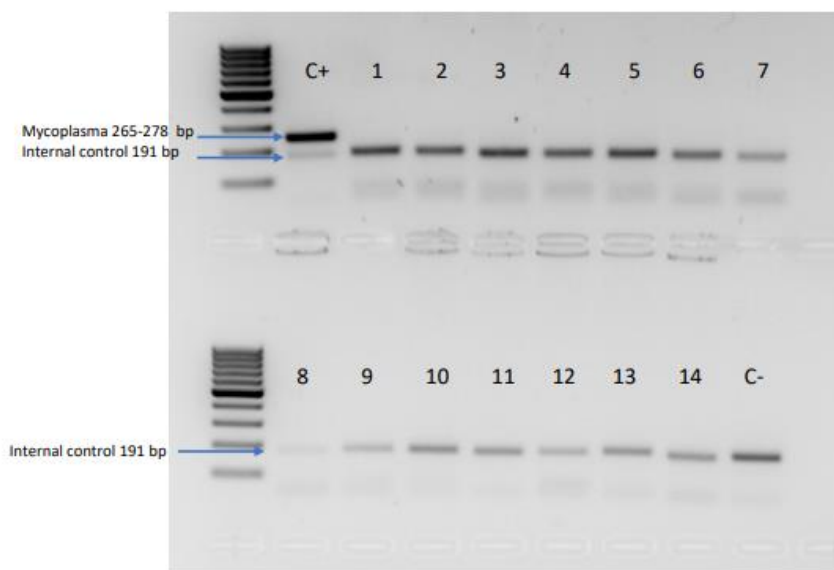
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 31/08/2022



1. JT1-MF22-120
2. JT2-MF21-10
3. JT3-MF21-41
4. PPMS PBiPS10-Sv4F-1 p11
5. PPMS PBiPS10-Sv4F-6 p10
6. PPMS PBiPS9-Sv4F-1 p8
7. PPMS PBiPS9-Sv4F-4 p7
8. PPMS PBiPS9-Sv4F-6 p7
9. PPMS PBiPS9-Sv4F-12 p7
10. LM con
11. LM D8+
12. LM D8 KO
13. LM D1+
14. LM mTsER

P-CMR[C]