



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **RRMS PBiPS14-Sv4F-7** 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

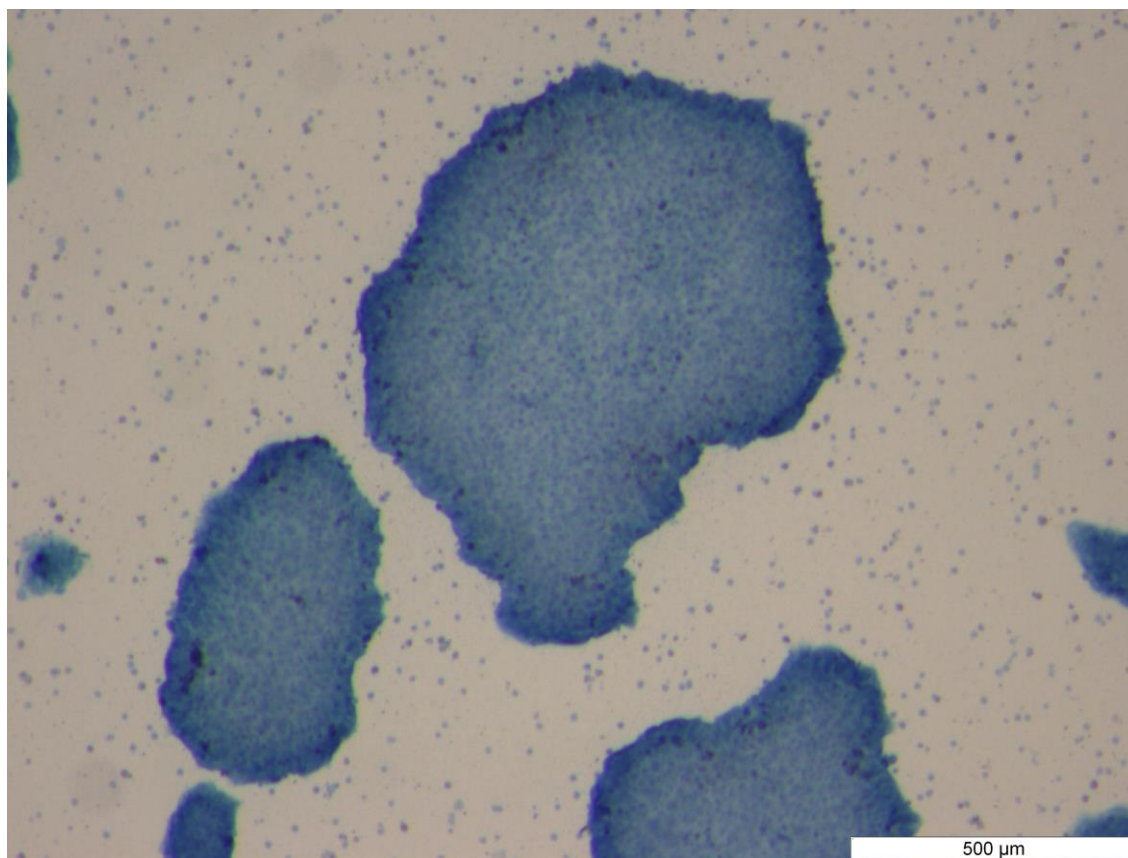
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

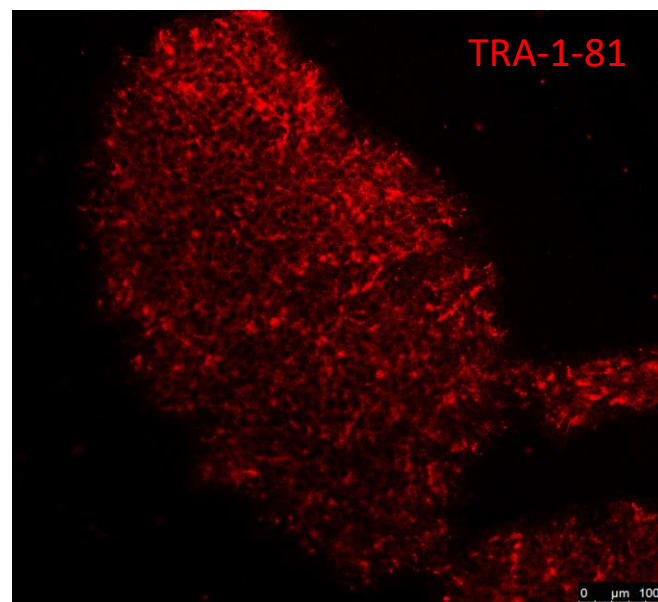
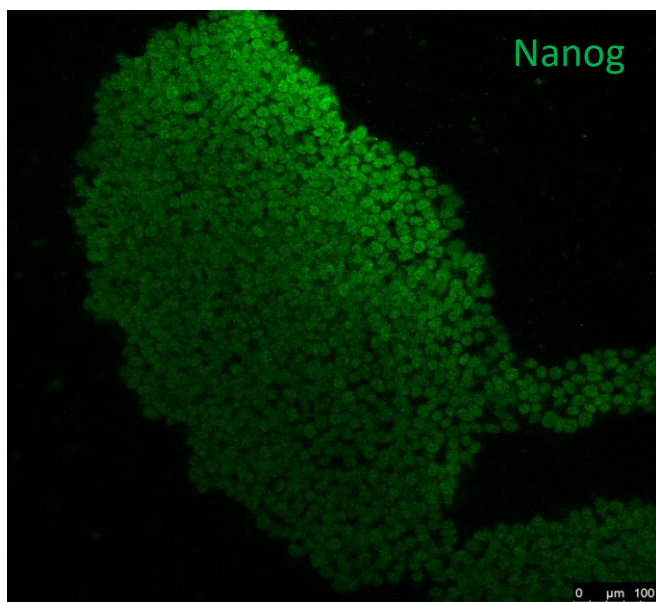


Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

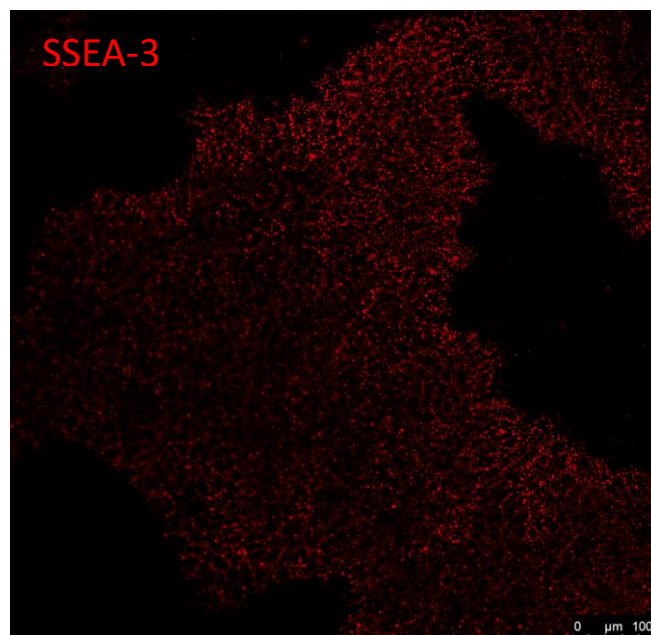
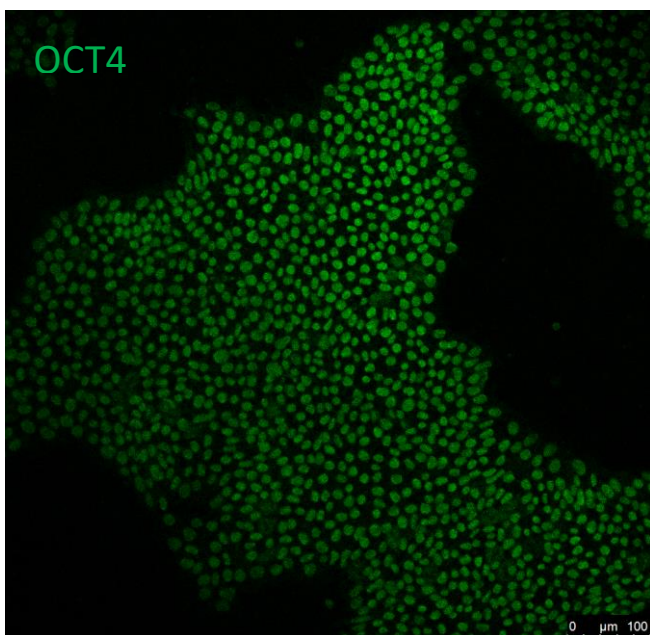


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



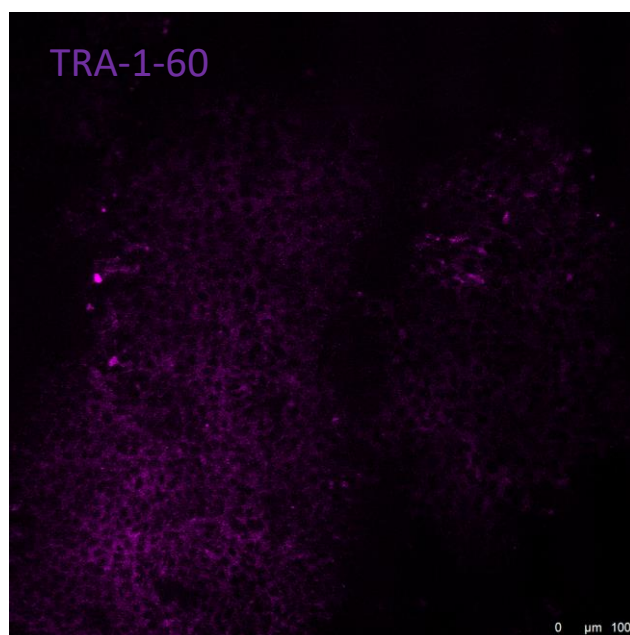
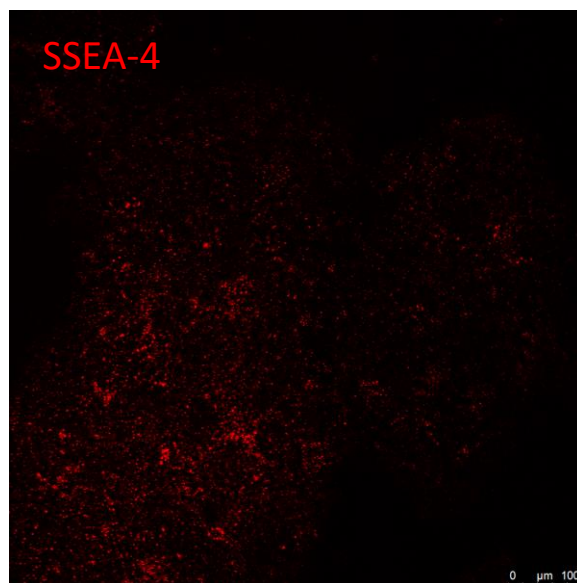
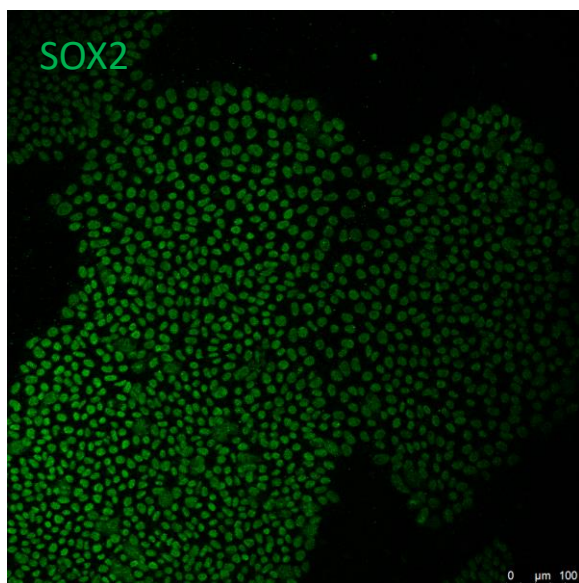
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



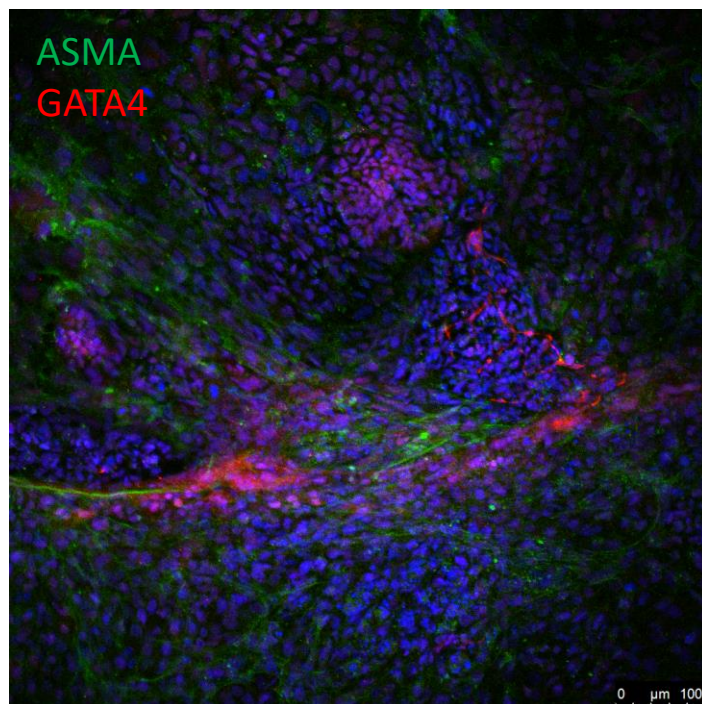
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

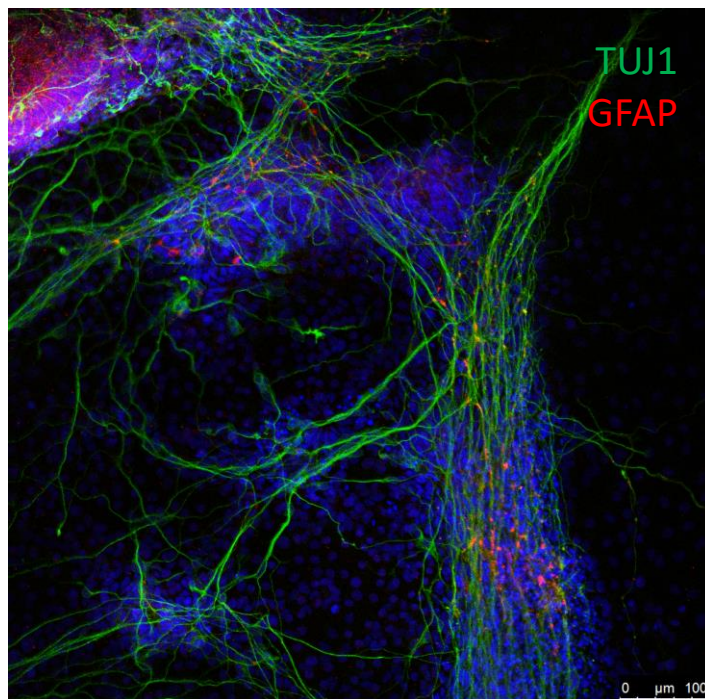


Anexo 2

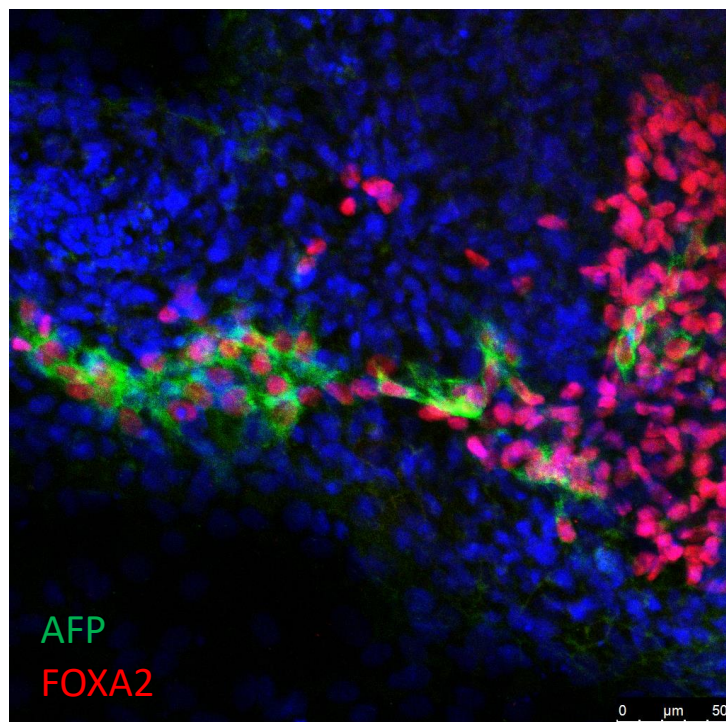
Diferenciación *in vitro*



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: 30670817

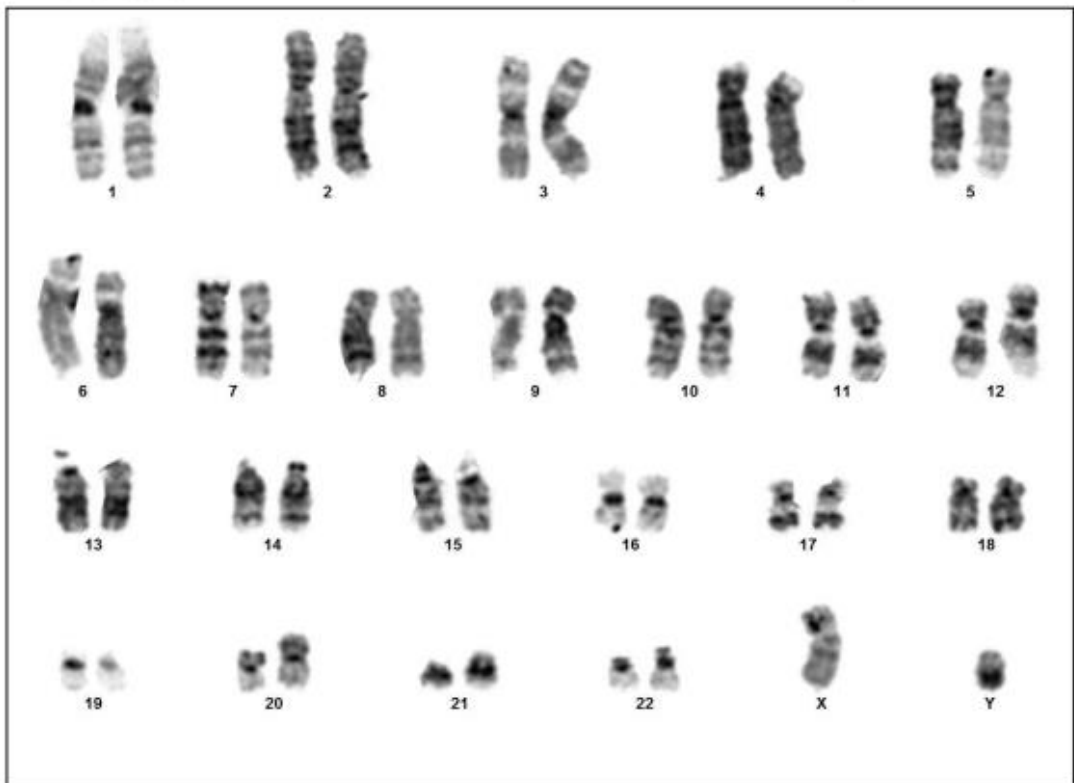
Name: RRMS PBiPS-14-Sv4F-7 p16

NHC: CT0579

Department: IDIBELL

Date: 3/27/2023

Sample: CM



Case: 30670817 Slide: 2 Cell: 4F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsátélites

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
RRMS PBiPS14-Sv4F-7 p15	7;9	24.2; 31	9; 13	8; 14	11	13	10; 13	X; Y	15; 20	10; 11

Barcelona, a 27 de abril de 2023

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
PB MS14 SAP11790578, 13.10.2022	7; 9	24.2; 31	9; 13	8; 14	11	13	10; 13	X; Y	15; 20	10; 11

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

22/12/22

1. PMM2 FB20484 Sv-Inf, 0,5M cells, 16.02.2021
2. RRMS PBiPS14-Sv4F-5 , p10, 07.12.22
3. RRMS PBiPS14-Sv4F-7, p10, 07.12.22
4. RRMS PBiPS14-Sv4F-9, p11, 07.12.22
5. RRMS PBiPS14-Sv4F-15, p9, 07.12.22
6. Sample NO RT
7. NEGATIVE CONTROL
8. H2O

Sev (181 pb)



C- Myc (532 pb)



KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



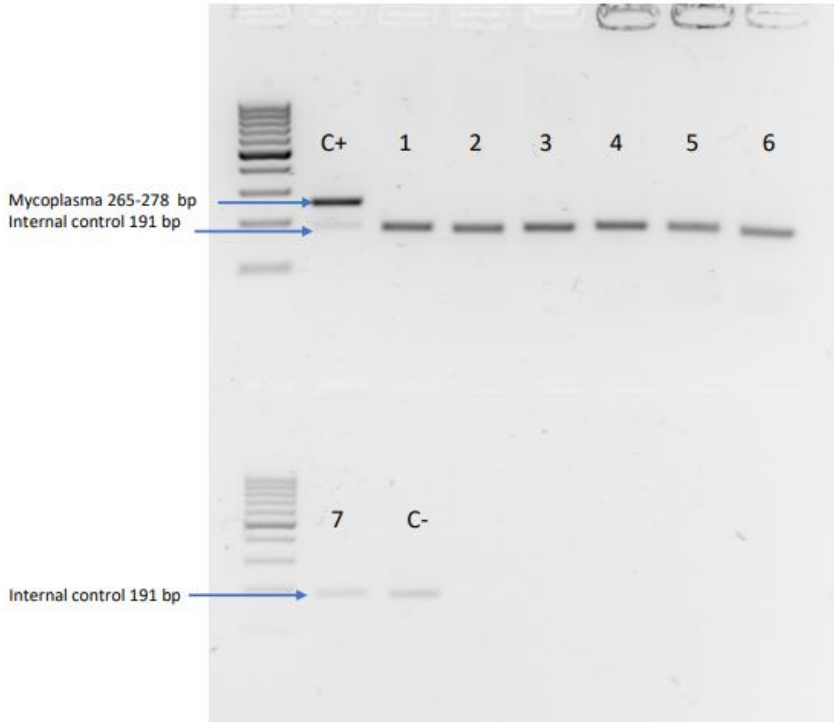
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 03/01/2023



1. hFibroblasts 227 p4
2. hFibroblasts 308 p4
3. hFibroblasts 2550 p5
4. RRMS_PBiPS12_Sv4F_6 p10
5. RRMS_PBiPS14_Sv4F_5 p10
6. RRMS_PBiPS14_Sv4F_7 p10
7. NF_STIPS245_Sv4F_6 p19

P-CMR[C]