



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR **RRMS PBiPS12-Sv4F-6** 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

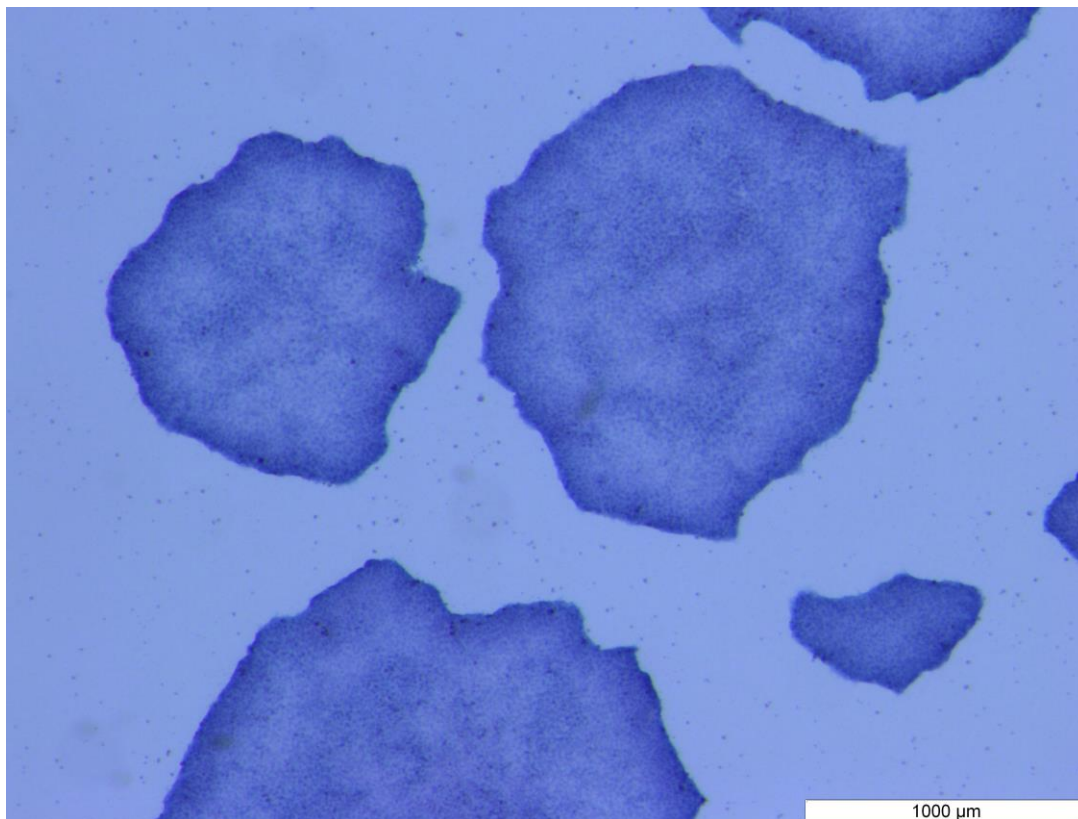
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

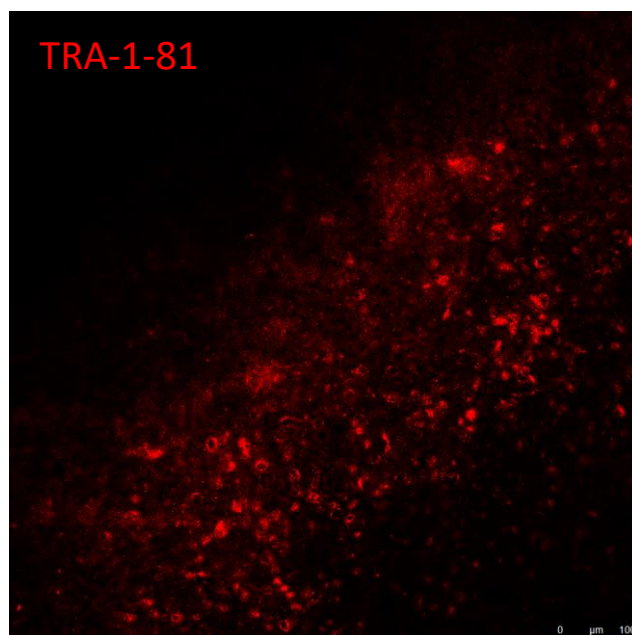
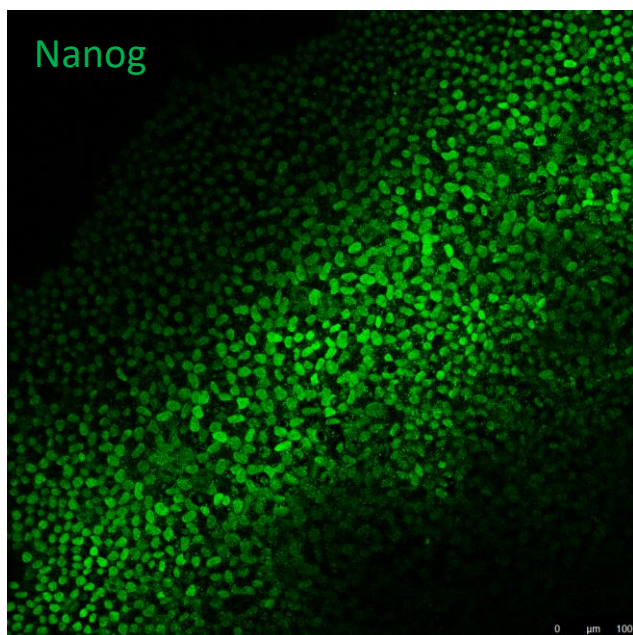


## **Anexo 1**

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

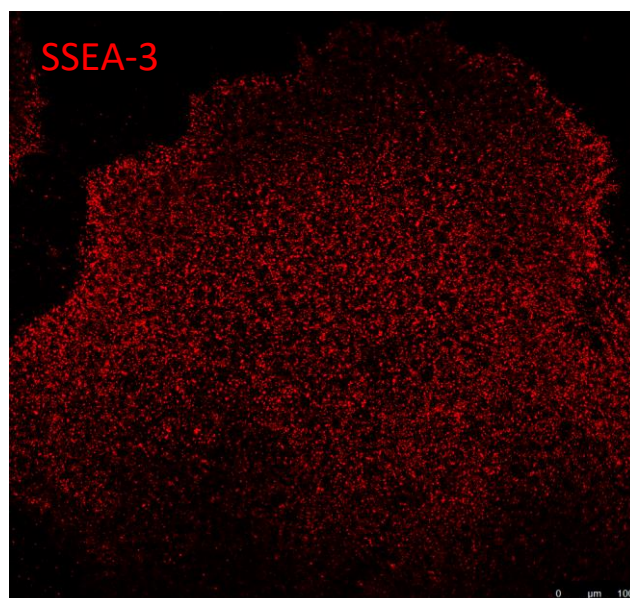
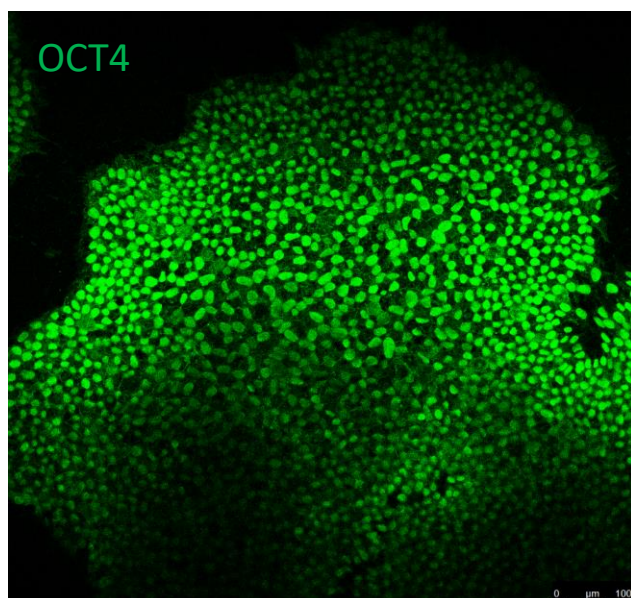


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



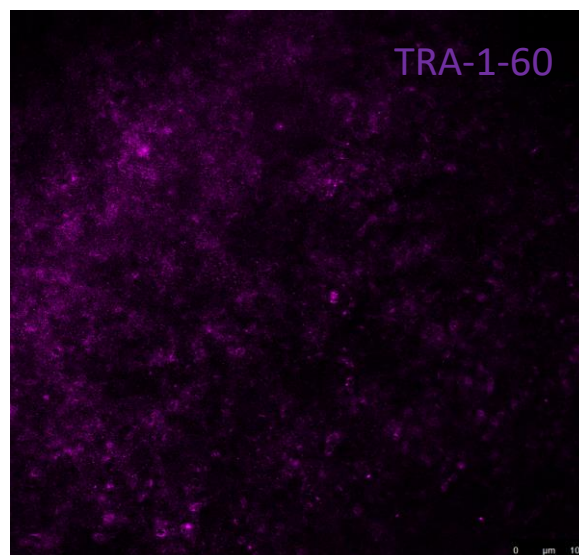
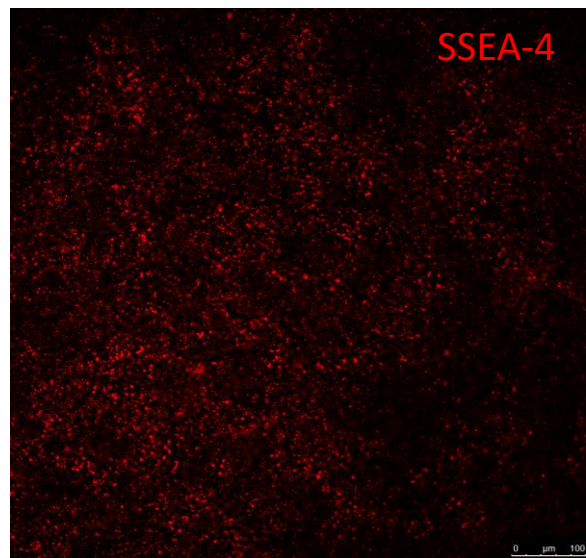
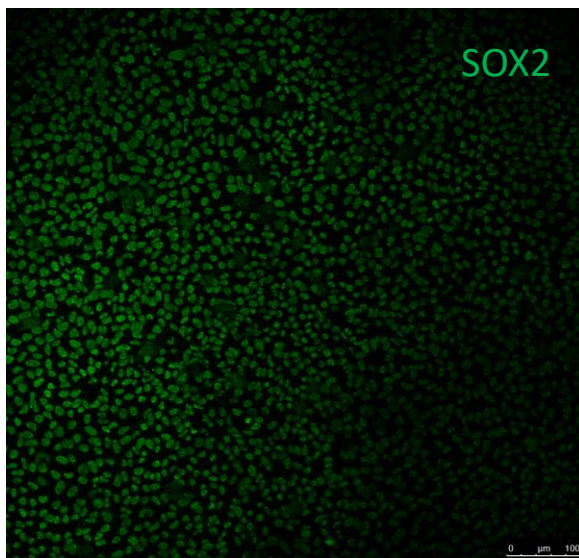
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**



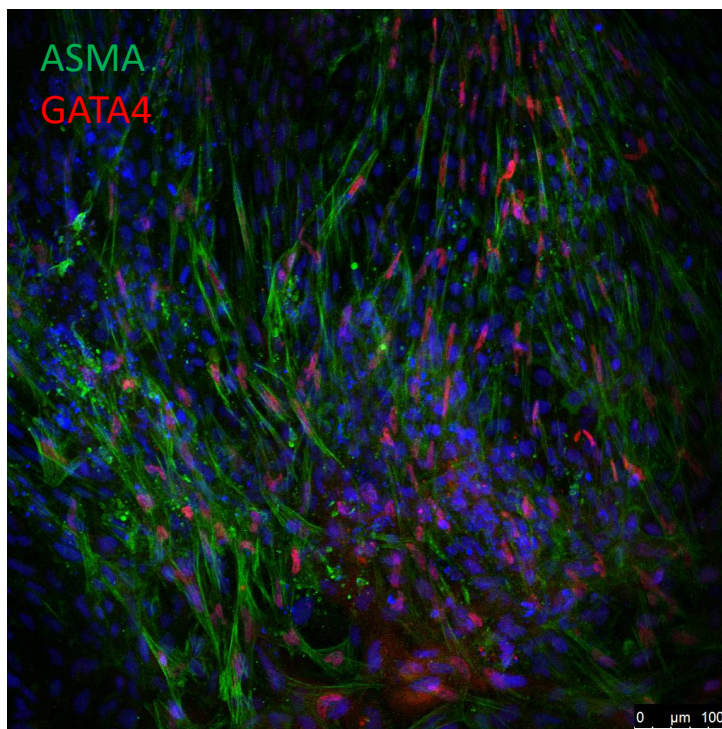
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

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

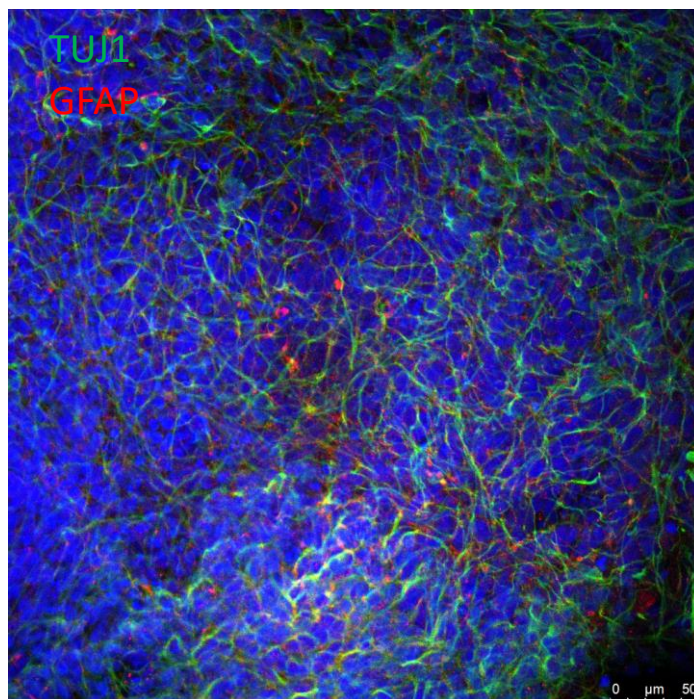


## **Anexo 2**

### **Diferenciación *in vitro***

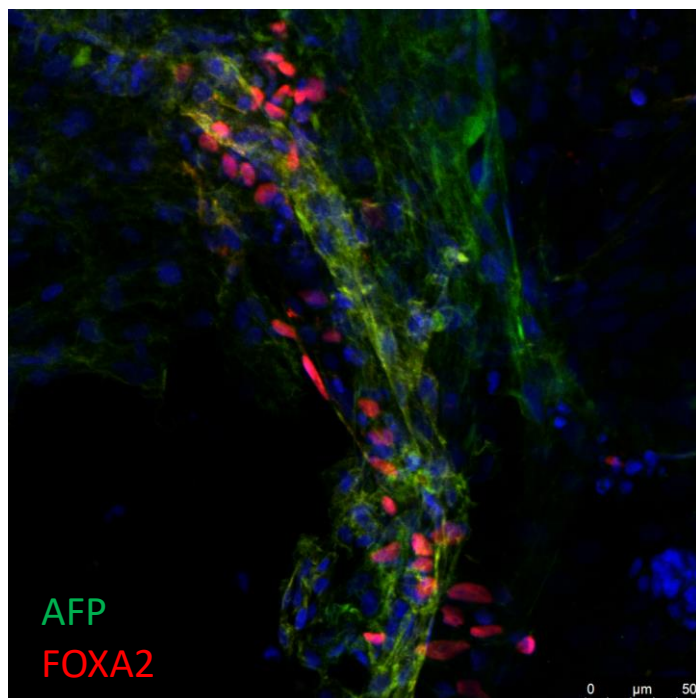


Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y GATA4**



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: 23350844

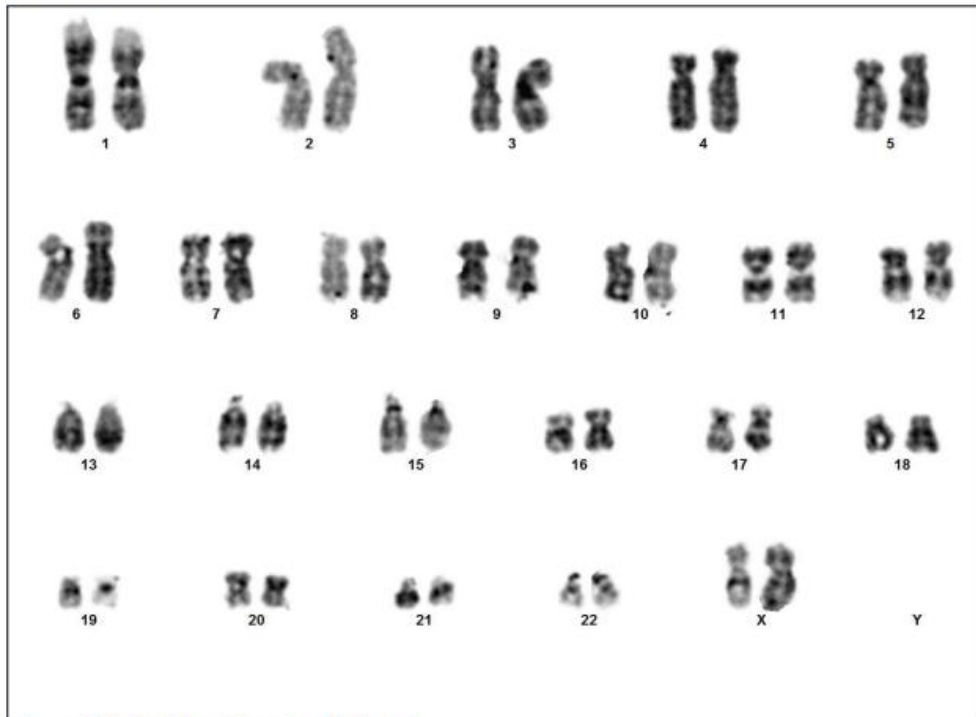
Department: IDIBELL

Name: RRMS PBiPS12-Sv4F-6 p12

Date: 12/21/2022

NHC: CT0551

Sample: CM



Case: 23350844 Slide: 3 Cell: 1F

Result: 46,XX



## **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 PBiPS12_6 p12	7; 9	29	12; 13	8; 12	8; 14	12; 13	10;11	X	16	8

## 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 MS12 SAP11913193, 20.09.2022	7; 9	29	12; 13	8; 12	8; 14	12; 13	10; 11	X	16	8

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en las PBMC de las que procede.



## **Anexo 5**

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

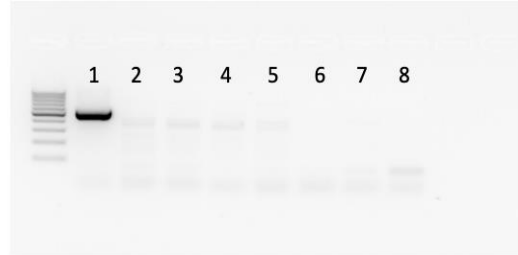
## RT-PCR SENDAI 2.0 15/11/22

1. PMM2 FB20484 Sv-Inf, 0,5M cells, 16.02.2021
2. RRMS PBiPS12 Sv4F-6, P10, mg, 14.11.22
3. RRMS PBiPS12 Sv4F-7, P9, mg, 11.11.22
4. RRMS PBiPS12 Sv4F-10, P9, mg, 11.11.22
5. RRMS PBiPS12 Sv4F-17, P8, mg, 14.11.22
6. Sample NO RT
7. Negative control
8. H2O

Sev (181 pb)



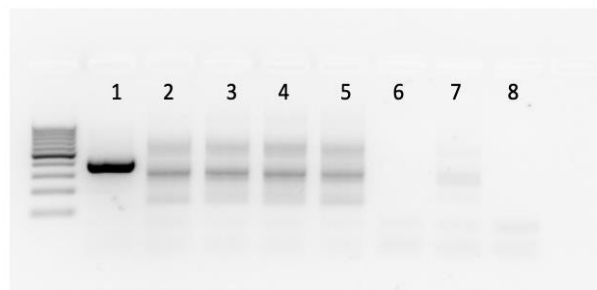
C- Myc (532 pb)



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

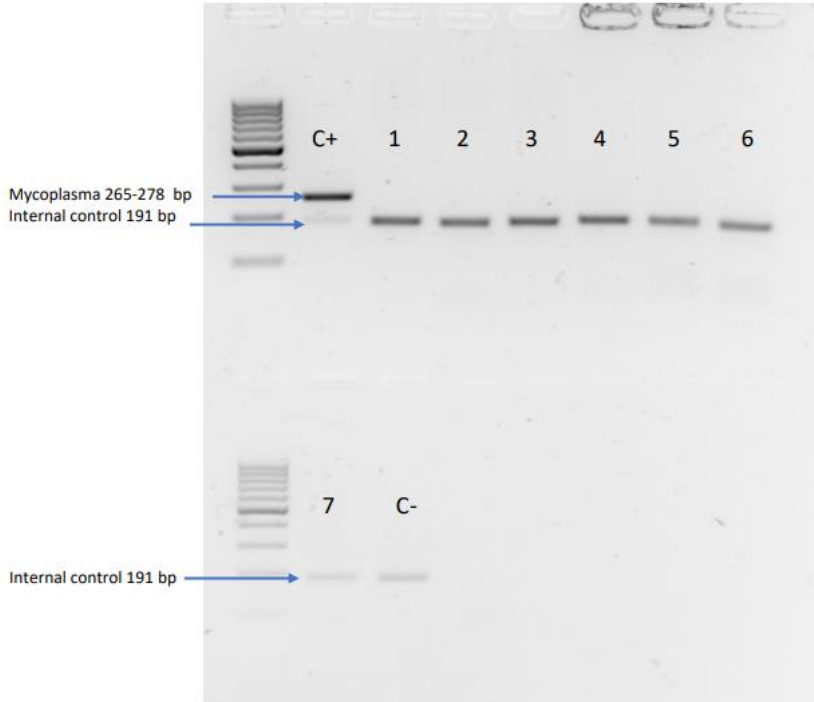


## **Anexo 6**

### **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]**