

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **IC-AD2-F-iPS-4F-1** EN EL BANCO
NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANNEXES TO THE APPLICATION FORM FOR DEPOSITING
IC-AD2-F-iPS-4F-1 CELL LINE
INTO THE NATIONAL BANK OF STEM CELL LINES

ANEXOS / ANNEXES

Anexo 1: Test de pluripotencia de la línea [IC-AD2-F-iPS-4F-1](#)

Annex 1: Pluripotency Test

Anexo 2: Test de diferenciación in vitro de la línea [IC-AD2-F-iPS-4F-1](#)

Annex 2: In vitro differentiation Test

Anexo 3: Cariotipo de la línea [IC-AD2-F-iPS-4F-1](#)

Annex 3: Karyotype

Anexo 4: Huella genética de los fibroblastos (células de origen) y de la línea [IC-AD2-F-iPS-4F-1](#)

Annex 4: Genetic fingerprinting

Anexo 5: Test de silenciamiento de la línea [IC-AD2-F-iPS-4F-1](#)

Annex 5: Silencing Test

Anexo 6: Confirmación del diagnóstico genotípico de la línea [IC-AD2-F-iPS-4F-1](#)

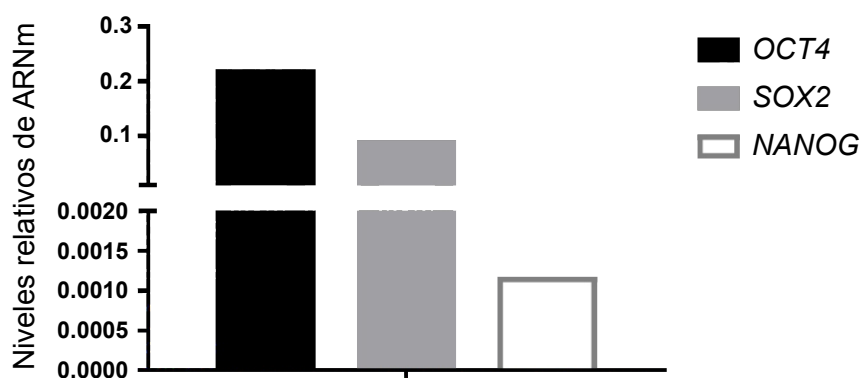
Annex 6: Confirmation of genotypic diagnosis of the line

Anexo 7: Test de micoplasma de la línea [IC-AD2-F-iPS-4F-1](#)

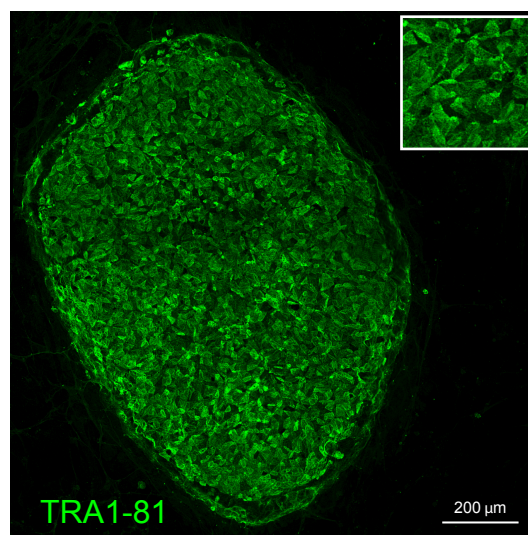
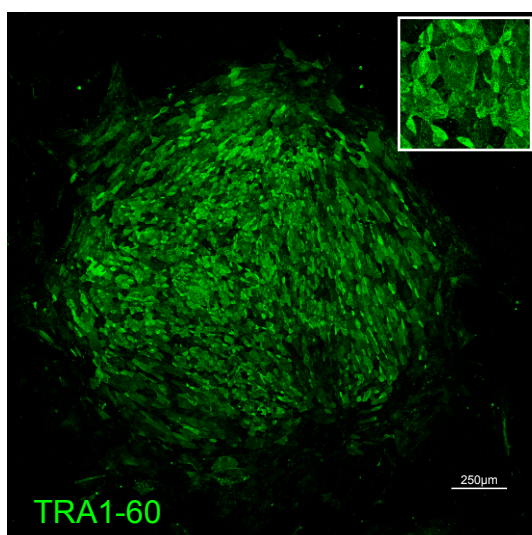
Annex 7: Mycoplasma Test

Anexo 1
Test de pluripotencia de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1

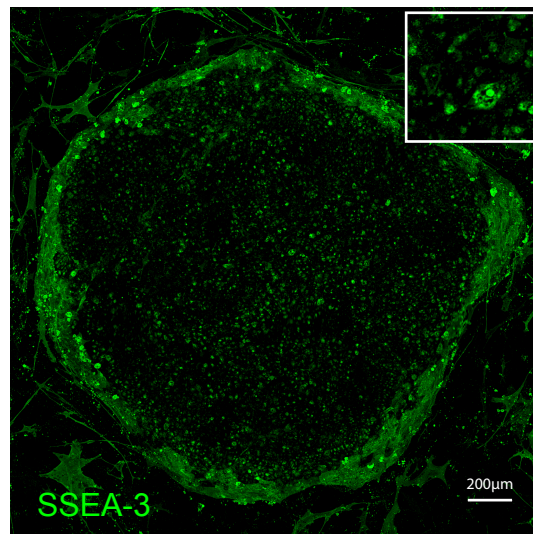
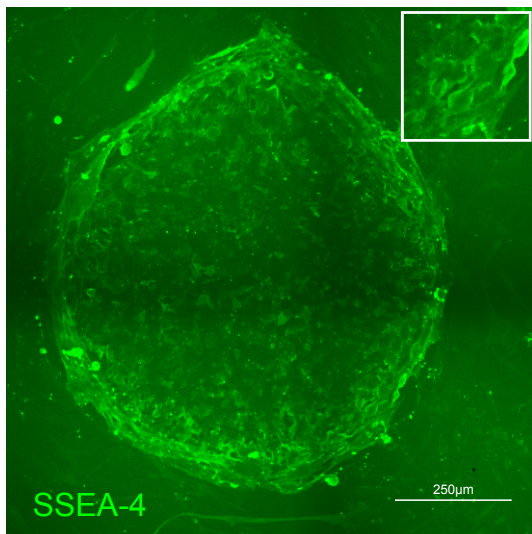
Annex 1
Pluripotency Test



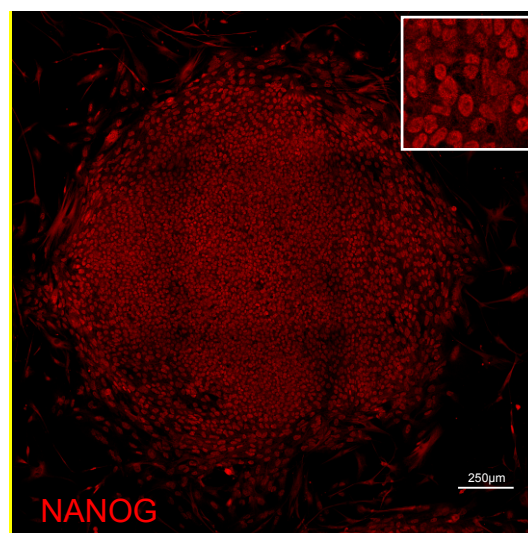
Niveles de expresión de OCT4, SOX2 y NANOG de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1
Expression levels of OCT4, SOX2 and NANOG



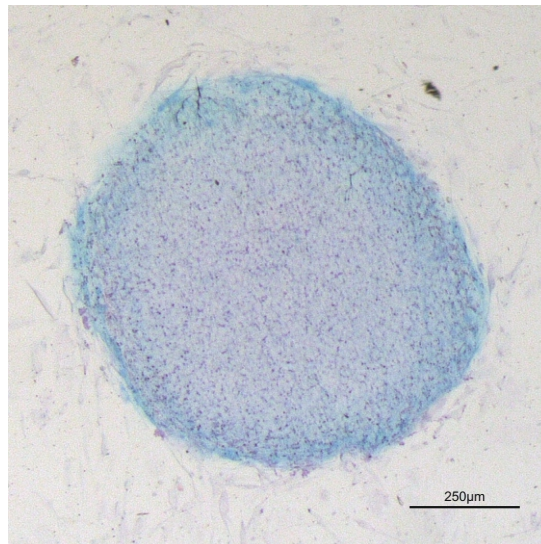
Detección por inmunofluorescencia de la expresión de TRA1-60 y TRA1-81 en la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1
Immunofluorescence detection of TRA1-60 and TRA1-81 expression



Detección por inmunofluorescencia de la expresión de SSEA-4 y SSEA-3 en la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1
Immunofluorescence detection of SSEA-4 and SSEA-3 expression



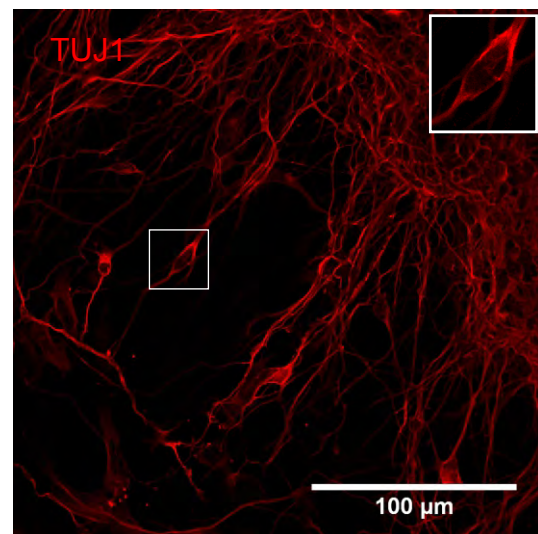
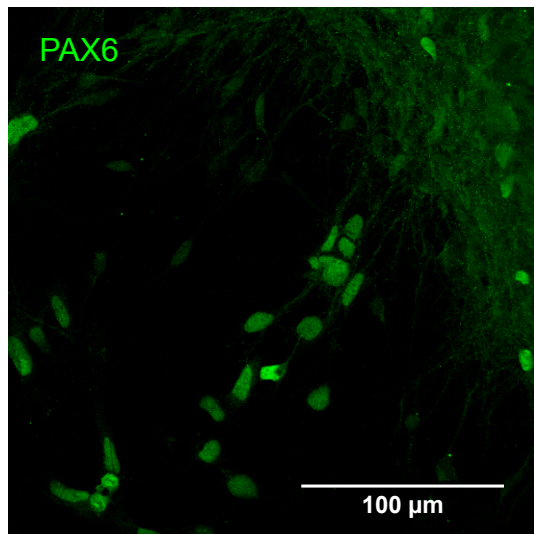
Detección por inmunofluorescencia de la expresión de NANOG en la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1
Immunofluorescence detection of NANOG expression



Detección de la actividad fosfatasa alcalina en la línea [IC-AD2-F-iPS-4F-1](#)
Detection of alkaline phosphatase activity

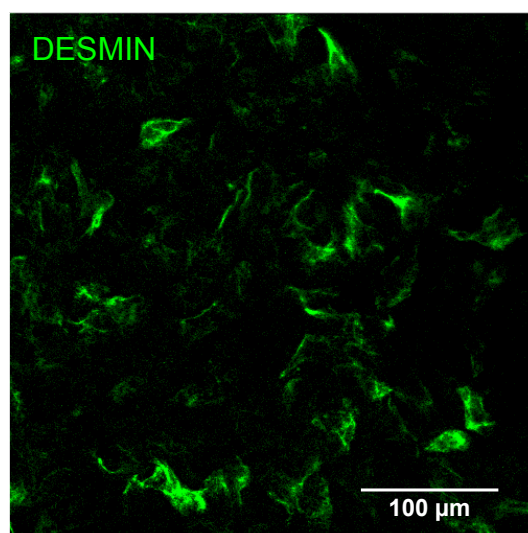
Anexo 2
Test de diferenciación *in vitro* de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1

Annex 2
In vitro differentiation Test



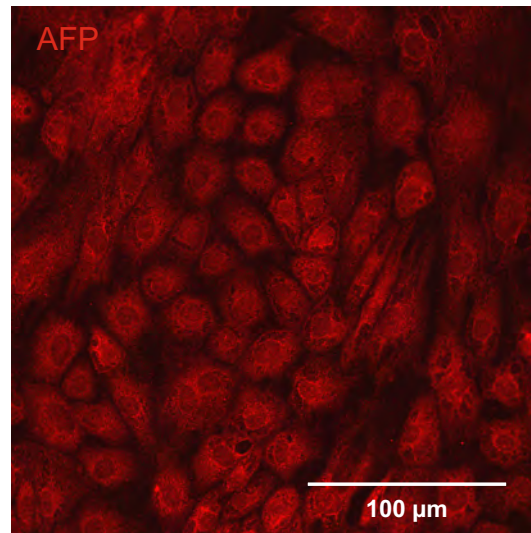
Diferenciación *in vitro* a Ectodermo de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1. Células positivas para PAX6 y TUJ1.

In vitro differentiation into Ectoderm. PAX6 and TUJ1 positive cells.



Diferenciación *in vitro* a Mesodermo de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1. Células positivas para DESMIN.

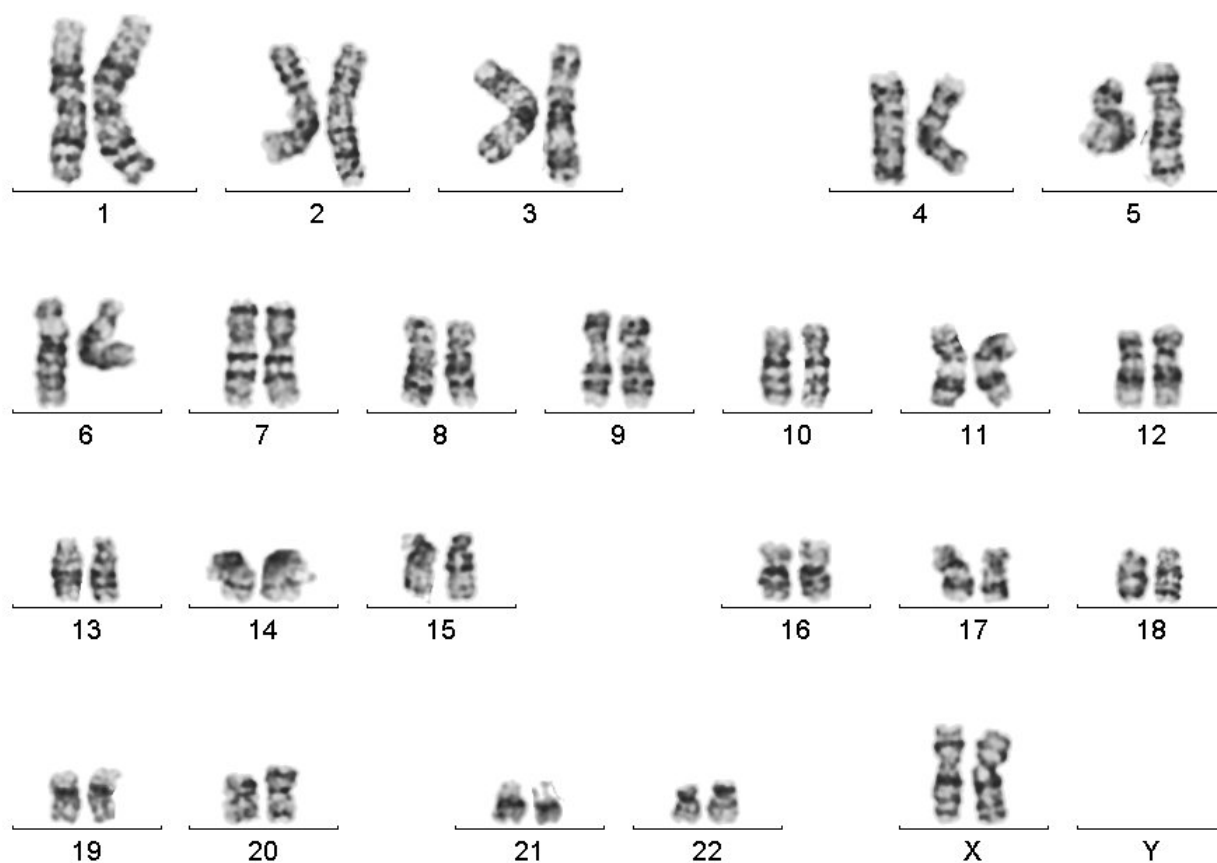
In vitro differentiation into Mesoderm. DESMIN positive cells.



Diferenciación in vitro a Endodermo de la línea [IC-AD2-F-iPS-4F-1](#). Células positivas para alfa-fetoproteína.
In vitro differentiation into Endoderm. Alpha-fetoprotein positive cells.

Anexo 3
Cariotipo de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1

Annex 3
Karyotype

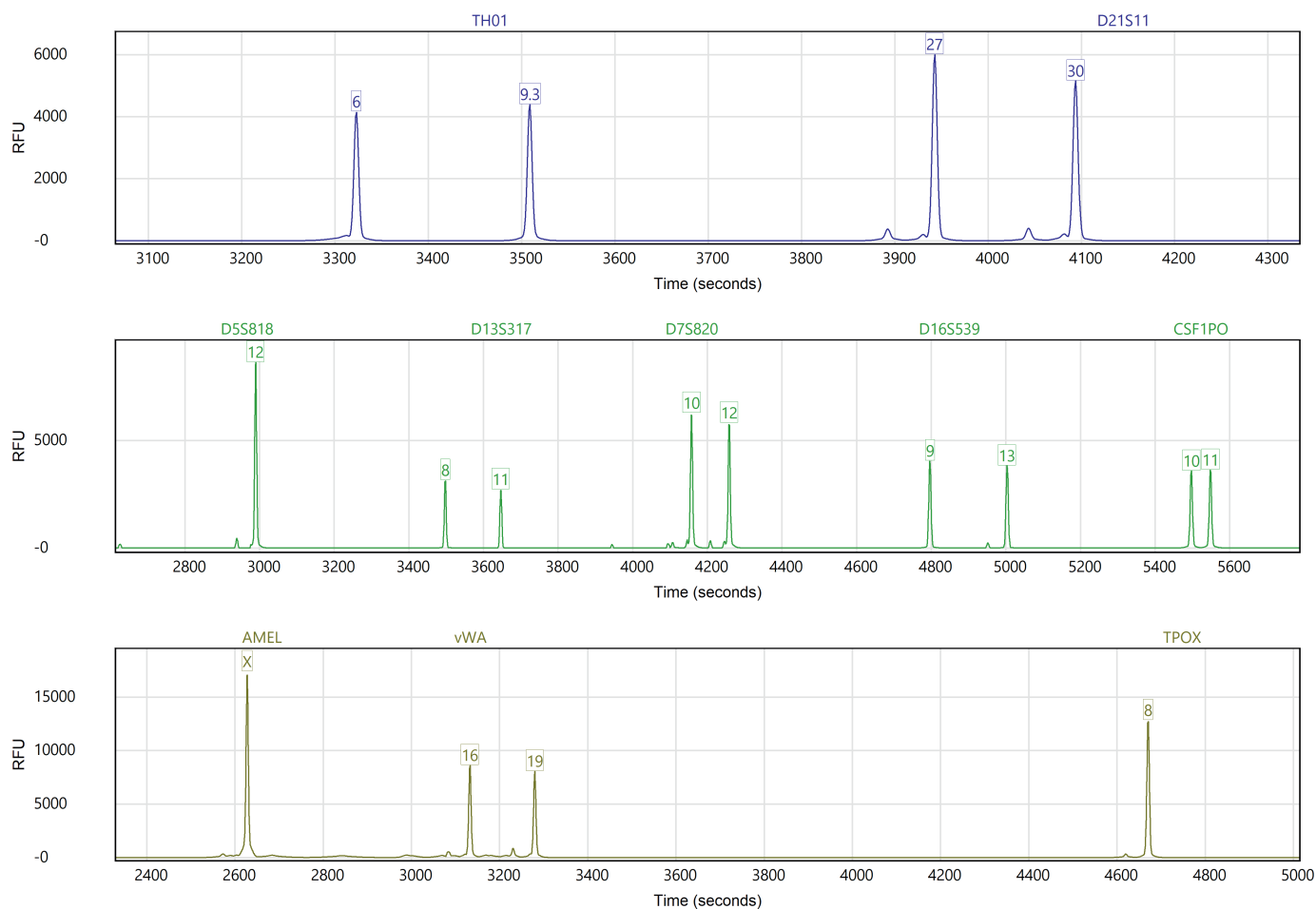


Anexo 4

Huella genética de los fibroblastos (células de origen)

Annex 4

Genetic fingerprinting of fibroblasts



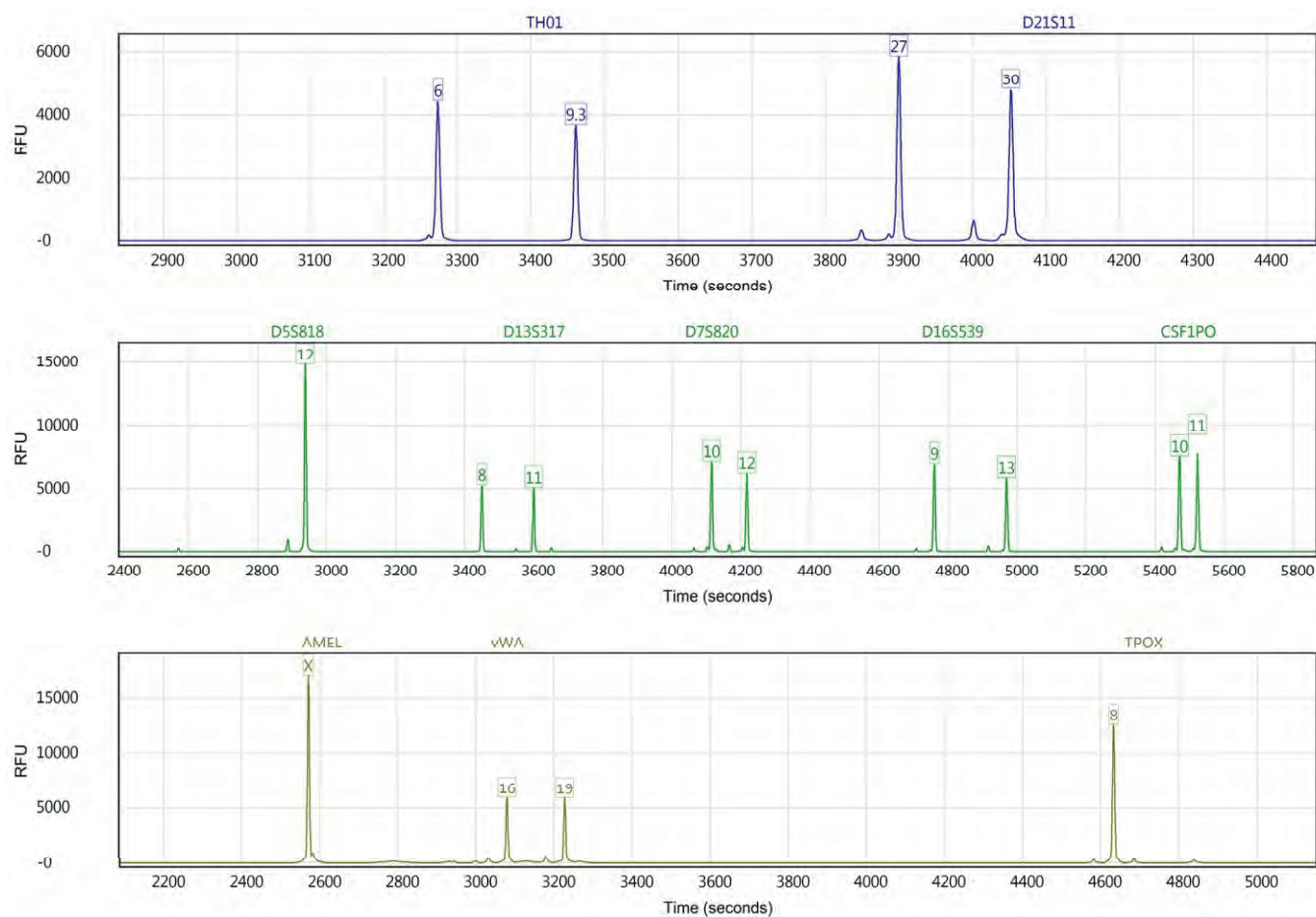
GenePrint10 Marker	Test Sample Profile
TH01	6, 9.3
D21S11	27, 30
D5S818	12
D13S317	8, 11
D7S820	10, 12
D16S539	9, 13
CSF1PO	10, 11
AMEL	X
vWA	16, 19
TPOX	8

Anexo 4

Huella genética de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1.

Annex 4

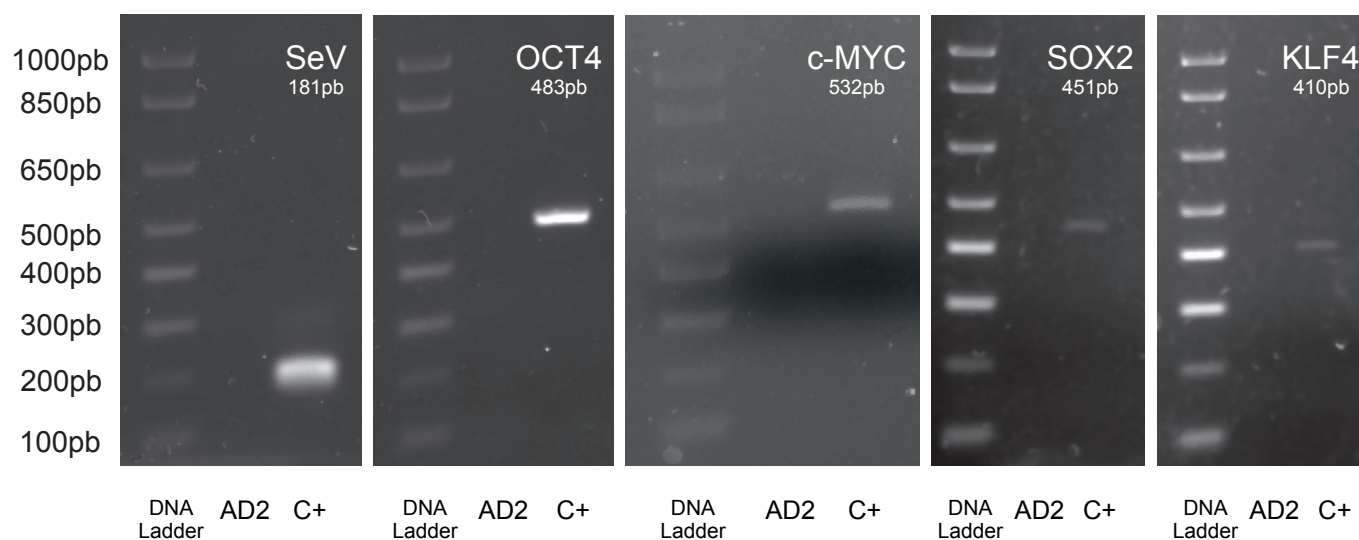
Genetic fingerprinting of line IC-AD2-F-iPS-4F-1



GenePrint10 Marker	Test Sample Profile
TH01	6, 9.3
D21S11	27, 30
D5S818	12
D13S317	8, 11
D7S820	10, 12
D16S539	9, 13
CSF1PO	10, 11
AMEL	X
vWA	16, 19
TPOX	8

Anexo 5
Test de silenciamiento de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1

Annex 5
Silencing Test



Gene		Primer (5'-3')	Length
SeV	Forward	GGA TCA CTA GGT GAT ATC GAG C*	181 bp
	Reverse	ACC AGA CAA GAG TTT AAG AGA TAT GTA TC*	
Oct4	Forward	CCC GAA AGA GAA AGC GAA CCA G	483 bp
	Reverse	AAT GTA TCG AAG GTG CTC AA*	
cMyc	Forward	TAA CTG ACT AGC AGG CTT GTC G*	532 bp
	Reverse	TCC ACA TAC AGT CCT GGA TGA TGA TG	
Sox2	Forward	ATG CAC CGC TAC GAC GTG AGC GC	451 bp
	Reverse	AAT GTA TCG AAG GTG CTC AA*	
Klf4	Forward	TTC CTG CAT GCC AGA GGA GCC C	410 bp
	Reverse	AAT GTA TCG AAG GTG CTC AA*	

* Primer contains SeV genome sequences. Pairing of these primers with transgene-specific primers allows specific detection of transgenes carried by the CytoTune™ Sendai reprogramming vectors. Note that the same reverse primer is used for detecting Sox2, Klf4, and Oct4.

Anexo 6

Confirmación del diagnóstico genotípico de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1

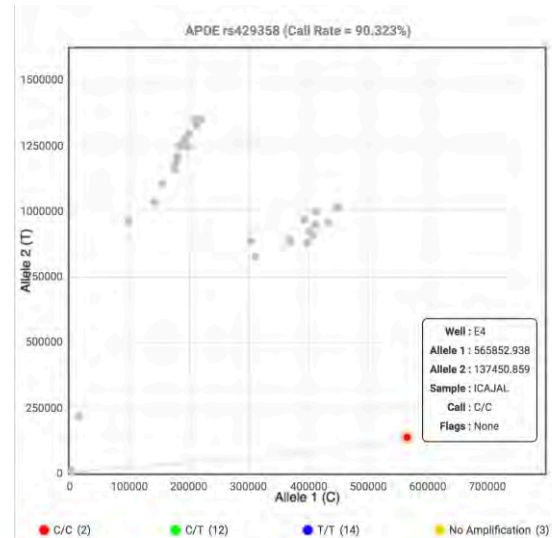
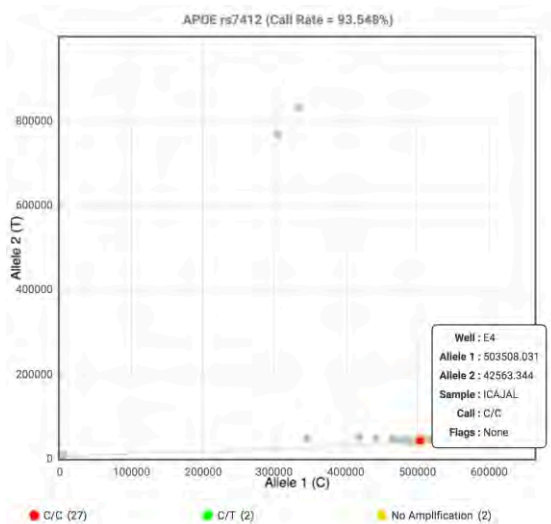
Annex 6

Confirmation of genotypic diagnosis of the line IC-AD2-F-iPS-4F-1

SNP rs7412



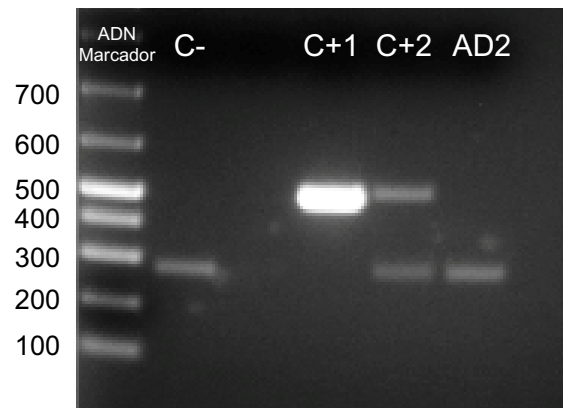
SNP rs429358



Using TaqMan SNP genotyping assays, we analyzed the rs429358 and rs7412 SNPs showing that only the VIC probe (green) bound to the C-containing allele in both SNPs, confirming that the IC-AD2-F-iPS-4F-1 cell line has an ApoE4/E4 genotype. No amplification was observed with the FAM probe (blue) that recognizes the T-containing allele.

Anexo 7
Test de micoplasma de la línea IC-AD2-F-iPS-4F-1

Annex 7
Mycoplasma Test



- Contaminación: Bandas entre 448-611 bp Micoplasma positivo
- Control interno 270 bp
- A mayor contaminación menos amplificación del control interno
- C- : control interno
- C+ : control positivo de cultivo contaminado con micoplasma