

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR **IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1** EN EL BANCO  
NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANNEXES TO THE APPLICATION FORM FOR DEPOSITING  
**IC-Ctrl1-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-Ctrl1-F-iPS-4F-1](#)

Annex 1: Pluripotency Test

Anexo 2: Test de diferenciación in vitro de la línea [IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1](#)

Annex 2: In vitro differentiation Test

Anexo 3: Cariotipo de la línea [IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1](#)

Annex 3: Karyotype

Anexo 4: Huella genética de los fibroblastos (células de origen)  
y de la línea [IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1](#)

Annex 4: Genetic fingerprinting

Anexo 5: Test de silenciamiento de la línea [IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1](#)

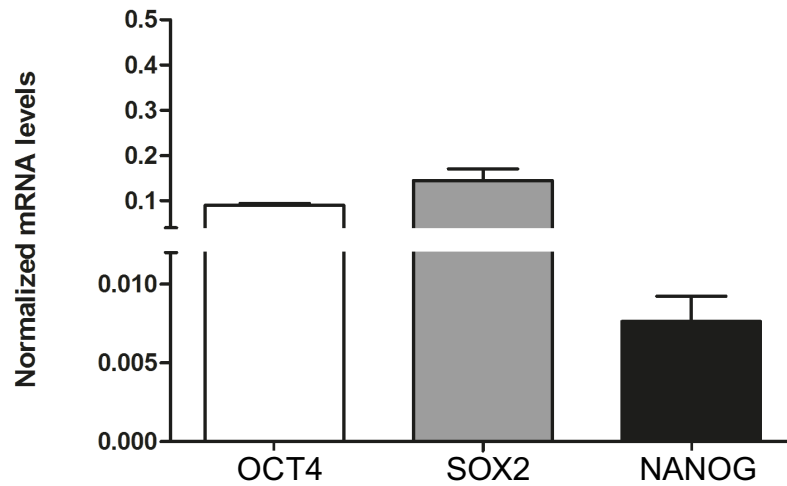
Annex 5: Silencing Test

Anexo 6: Test de micoplasma de la línea [IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1](#).

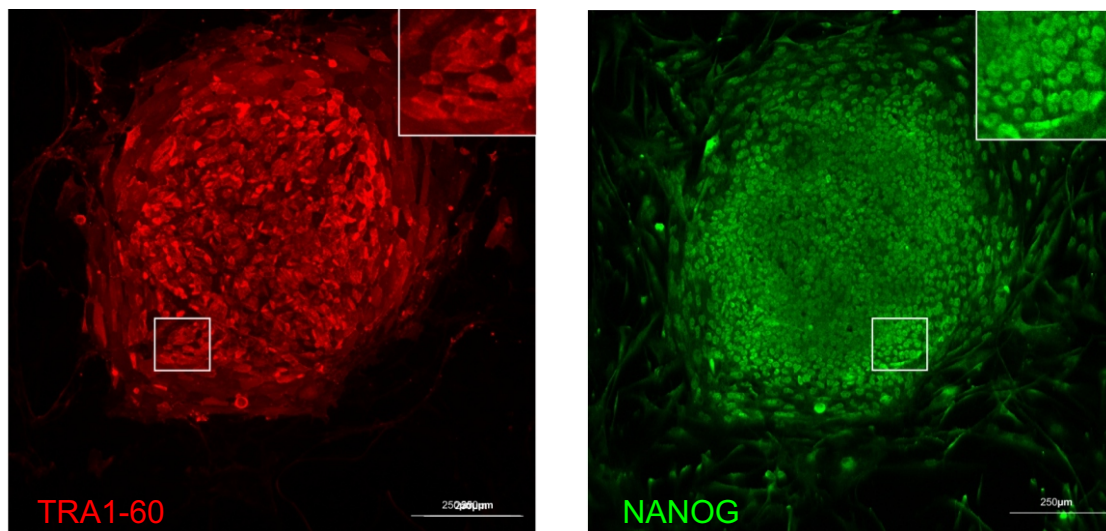
Annex 6: Mycoplasma Test

Anexo 1  
Test de pluripotencia de la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1

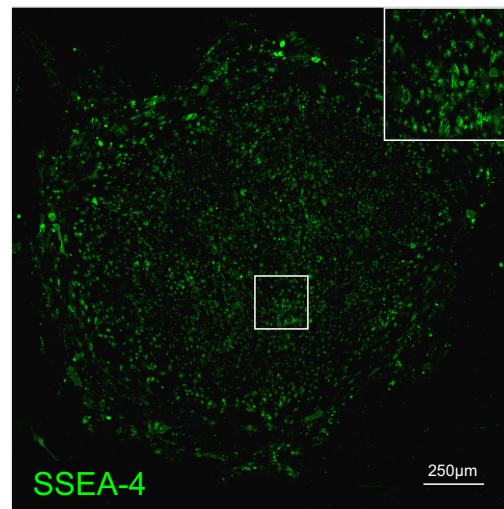
Annex 1  
Pluripotency Test



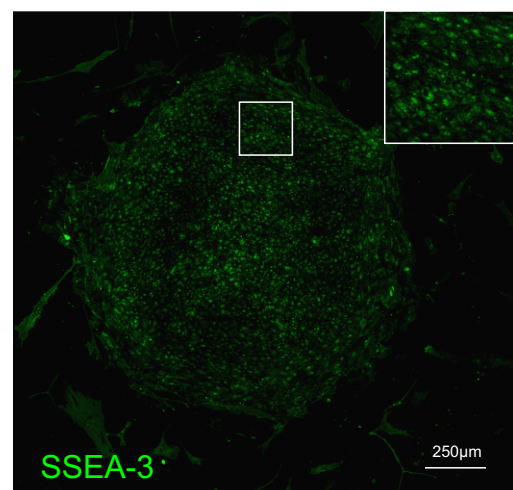
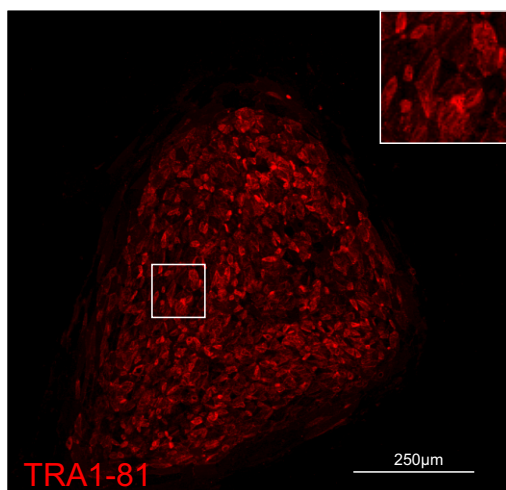
Niveles de expresion de OCT4, SOX2 y NANOG de la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1  
Expression levels of OCT4, SOX2 and NANOG



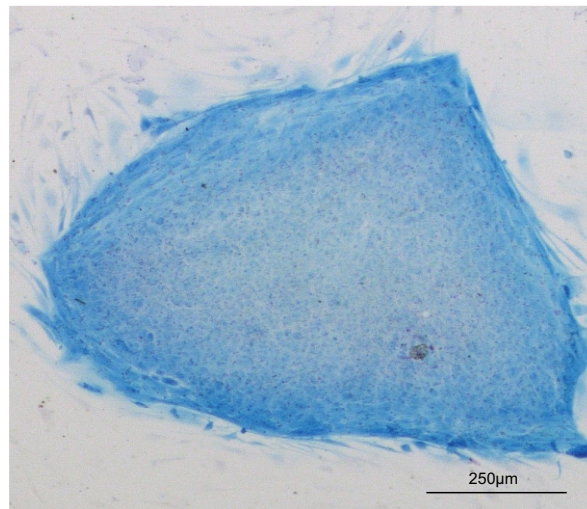
Detección por inmunofluorescencia de la expresión de TRA1-60 y NANOG en la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1  
Immunofluorescence detection of TRA1-60 and NANOG expression



Detección por inmunofluorescencia de la expresión de SSEA-4  
en la línea [IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1](#)  
Immunofluorescence detection of SSEA-4 expression



Detección por inmunofluorescencia de la expresión de TRA1-81 y SSEA-3 en  
la línea [IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1](#)  
Immunofluorescence detection of TRA1-81 and SSEA-3 expression



Detección por inmunocitoquímica de la actividad fosfatasa alcalina  
en la línea [IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1](#)

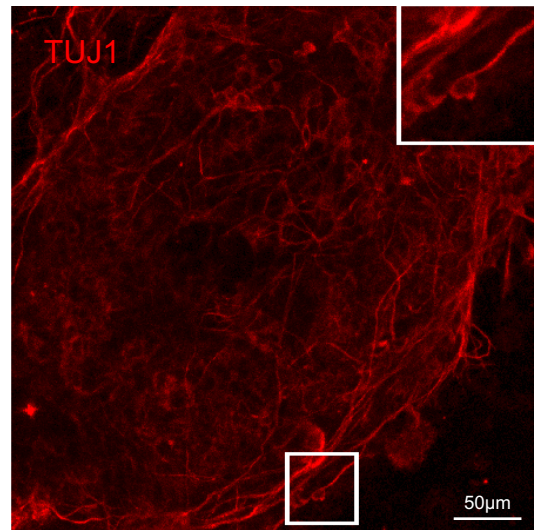
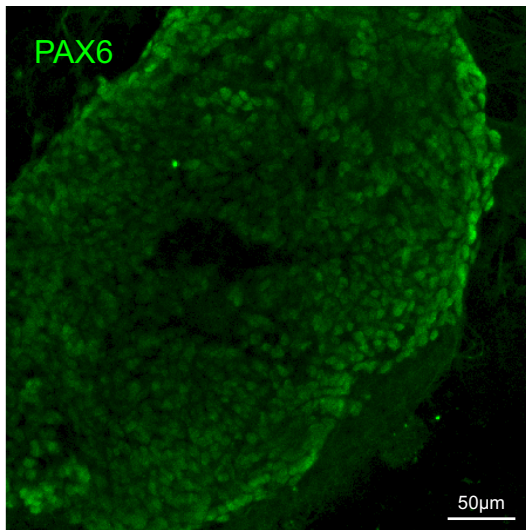
Immunocytochemistry detection of alkaline phosphatase activity

## Anexo 2

Test de diferenciación in vitro de la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1

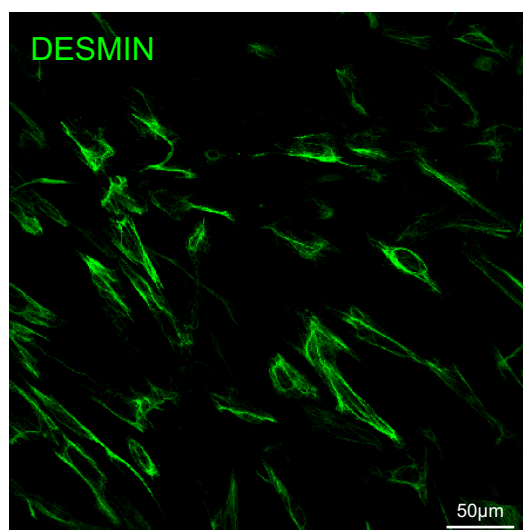
## Annex 2

In vitro differentiation Test



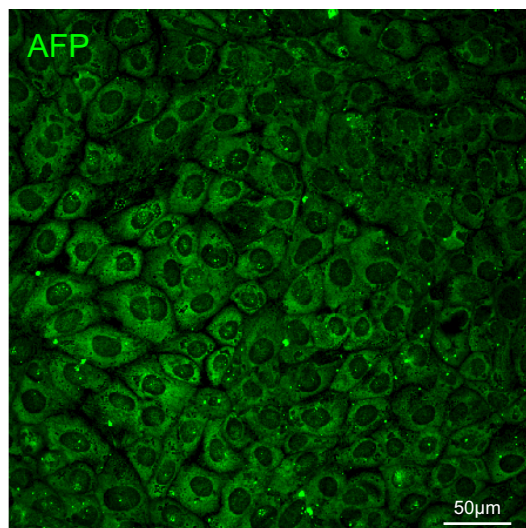
Diferenciación in vitro a Ectodermo de la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1. Células positivas para PAX6 y TUJ1.

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



Diferenciación in vitro a Mesodermo de la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1. Células positivas para DESMIN.

In vitro differentiation into Mesoderm. DESMIN positive cells.

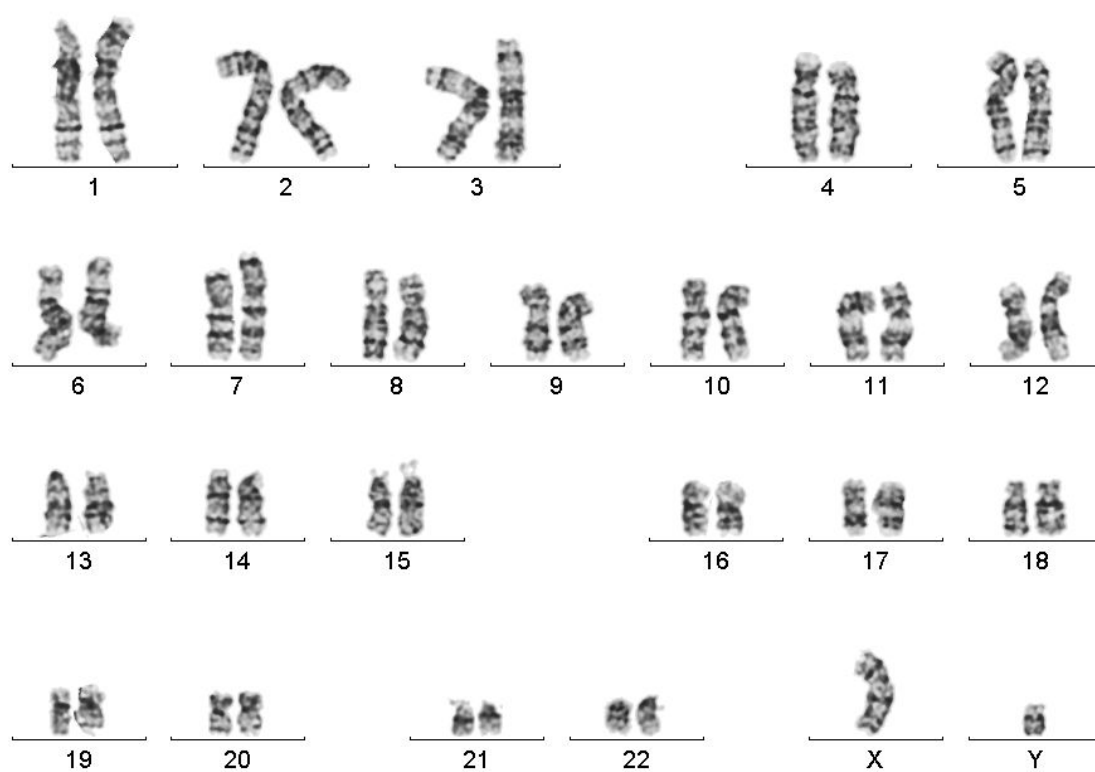


Diferenciación in vitro a Endodermo de la línea **IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1**. Células positivas para alfa-fetoproteína.

In vitro differentiation into Endoderm. Alpha-fetoprotein positive cells.

Anexo 3  
Cariotipo de la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1

Annex 3  
Karyotype

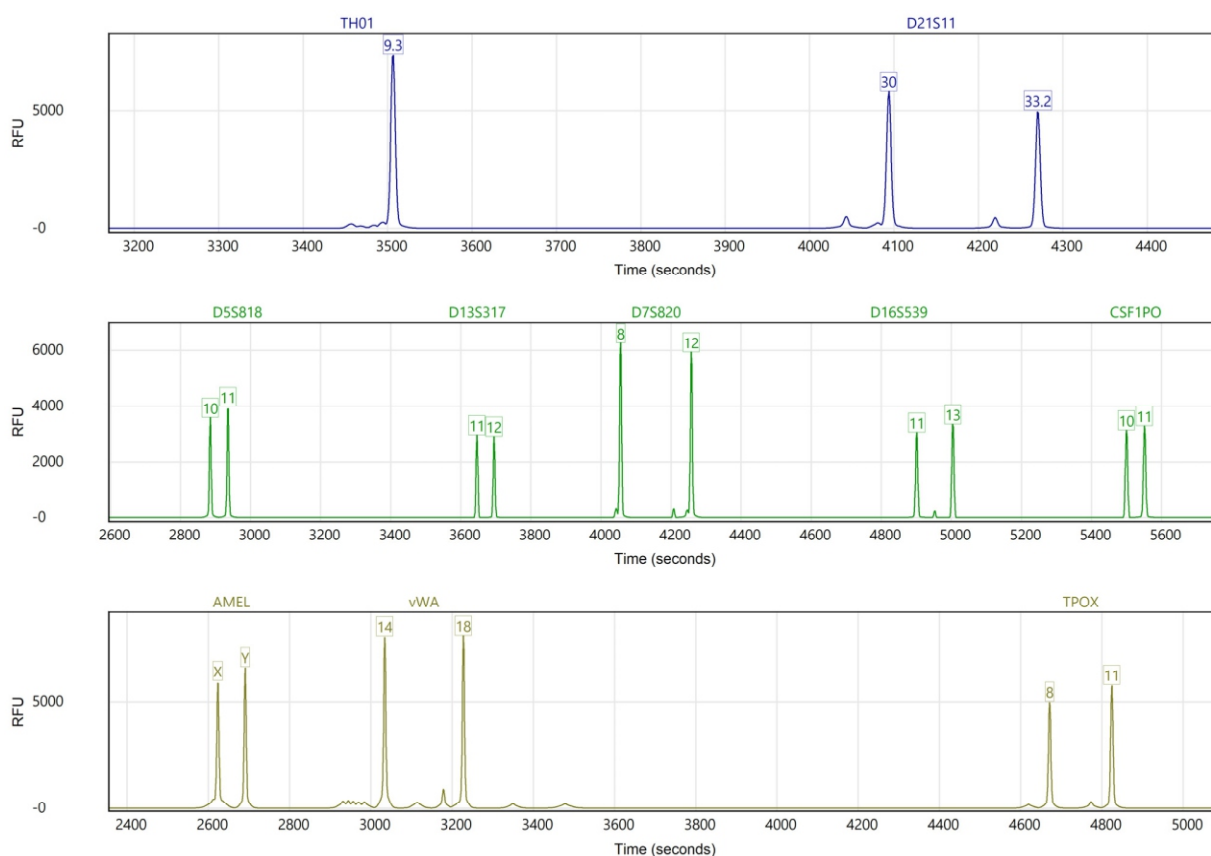


## Anexo 4

### Huella genética de los fibroblastos (células de origen)

## Annex 4

### Genetic fingerprinting of fibroblasts



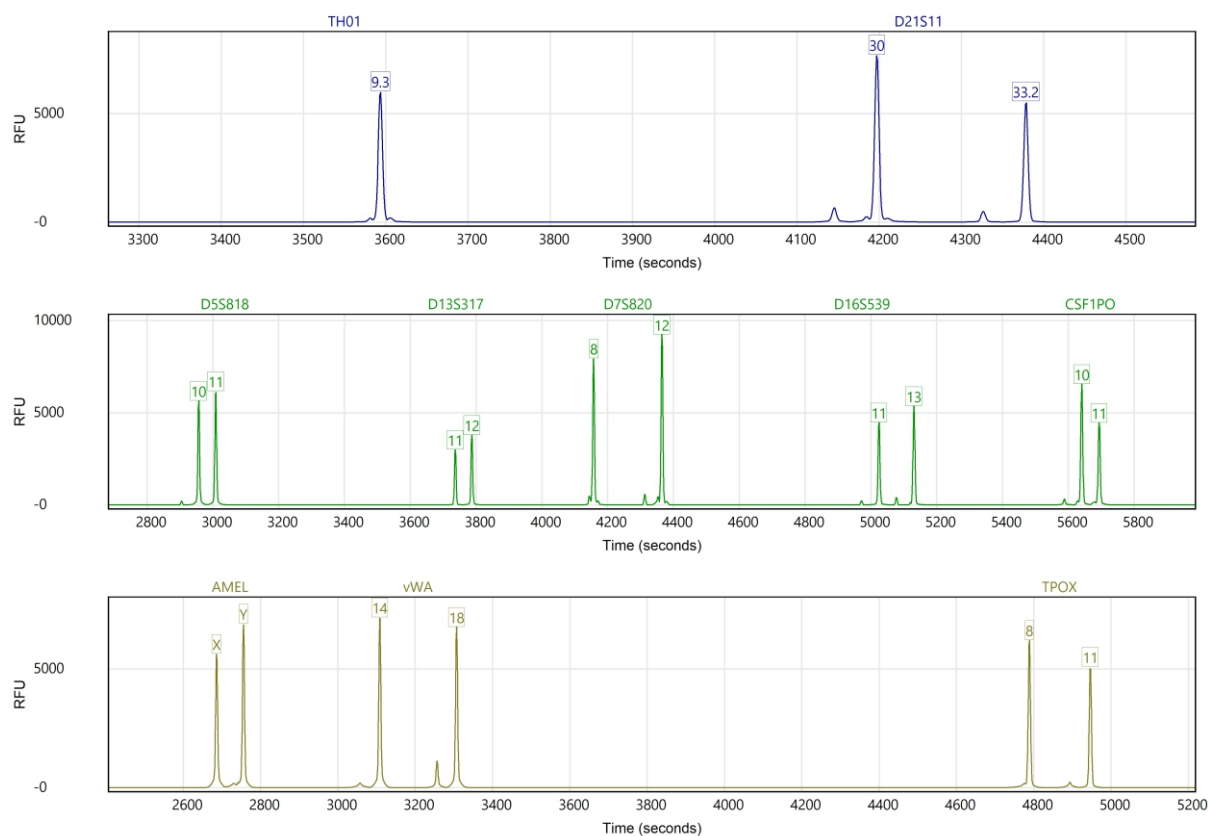
| GenePrint10 Marker | Test Sample Profile |
|--------------------|---------------------|
| TH01               | 9.3                 |
| D21S11             | 30, 33.2            |
| D5S818             | 10, 11              |
| D13S317            | 11, 12              |
| D7S820             | 8, 12               |
| D16S539            | 11, 13              |
| CSF1PO             | 10, 11              |
| AMEL               | X, Y                |
| vWA                | 14, 18              |
| TPOX               | 8, 11               |

## Anexo 4

### Huella genética de la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1.

## Annex 4

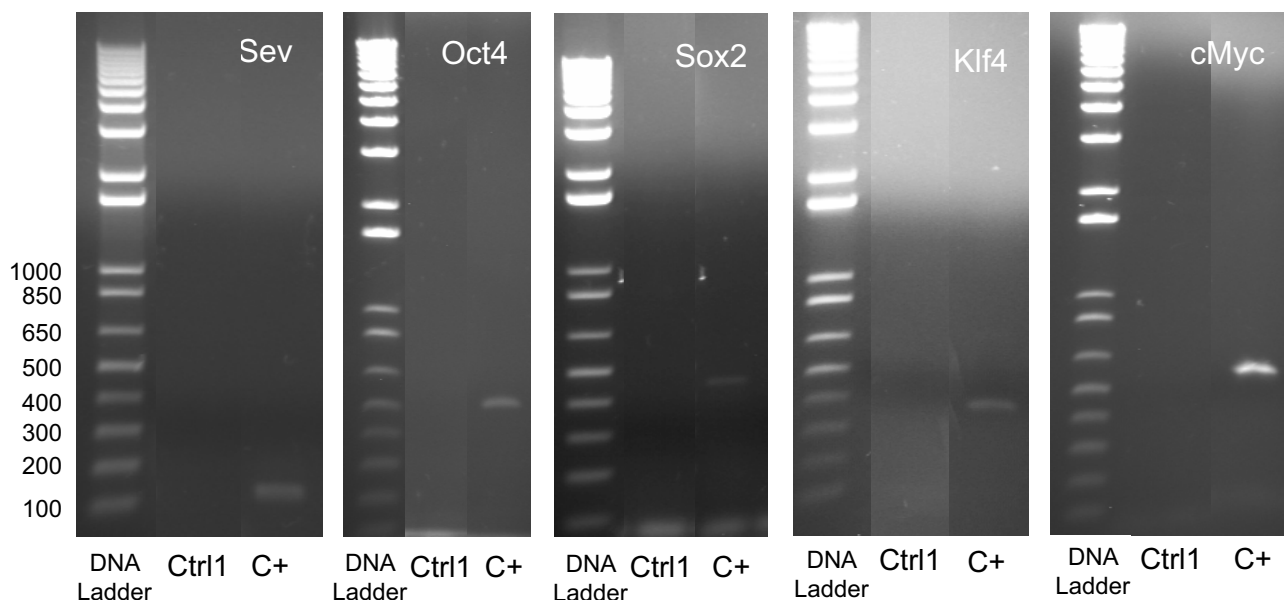
### Genetic fingerprinting of line IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1



| GenePrint10 Marker | Test Sample Profile |
|--------------------|---------------------|
| TH01               | 9.3                 |
| D21S11             | 30, 33.2            |
| D5S818             | 10, 11              |
| D13S317            | 11, 12              |
| D7S820             | 8, 12               |
| D16S539            | 11, 13              |
| CSF1PO             | 10, 11              |
| AMEL               | X, Y                |
| vWA                | 14, 18              |
| TPOX               | 8, 11               |

Anexo 5  
Test de silenciamiento de la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1

Annex 5  
Silencing Test

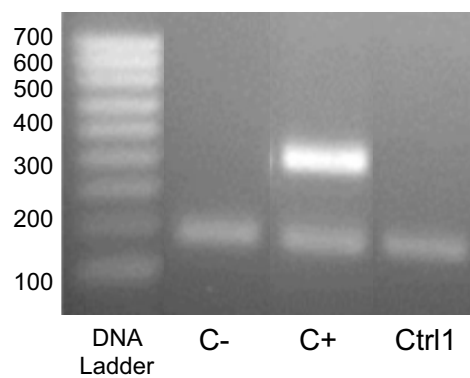


| Gene |         | Primer (5'-3')                          | Length |
|------|---------|-----------------------------------------|--------|
| Sev  | Forward | GGA TCA CTA GGT GAT ATC GAG C*          | 181 bp |
|      | Reverse | ACC AGA CAA GAG TTT AAG AGA TAT GTA TC* |        |
| Oct4 | Forward | CCC GAA AGA GAA AGC GAA CCA G           | 483 bp |
|      | Reverse | AAT GTA TCG AAG GTG CTC AA*             |        |
| 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*             |        |
| cMyc | Forward | TAA CTG ACT AGC AGG CTT GTC G*          | 532 bp |
|      | Reverse | TCC ACA TAC AGT CCT GGA TGA TGA TG      |        |

\* 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  
Test de micoplasma de la línea IC-Ctrl1-F-iPS-4F-1

Annex 6  
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