

# BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES (TRONCALES)

*National Bank of Stem Cell Lines*

## IMPRESO DE SOLICITUD DE DEPÓSITO DE UNA LÍNEA iPS

*Application Form to Deposit an iPS cell line of human origin*

Documentos que se acompañan:

*Attached documents:*

- Copia de la autorización de derivación de la línea celular, junto con informe del Comité Ético del centro de procedencia.  
*A copy of the authorization for the derivation of the cell line, with the corresponding ethics committee approval*
- Copia de cualquier publicación científica relacionada con la derivación y/o caracterización de la línea.  
*A copy of any relevant published scientific papers related to the derivation and/or characterization of the cell line*
- C. V. del investigador principal (una página; formato libre).  
*A one page CV for the Principal Investigator*
- Otros (especificar).  
*Others (specify)*

### SECCIÓN 1

*Section 1*

### Información General

*General Information*

**Nombre de la línea:**

*Name of the line:*

**IB C1 (clon A201)**

**Investigador principal:**

*Principal Investigator: Rosario Sanchez Pernaute*

**Tipo de célula de la que se obtiene la línea: Fibroblastos humanos de piel**

*Cell type origin of the cell line: Adult human skin fibroblasts*

**¿El sujeto fuente tiene alguna patología?**

*Has the donor any pathological condition?*

**NO**       **SÍ**  (especificar)  
*No*                      *Yes*      *(specify)*

**¿La patología es de origen genético?**

*Is the pathological condition of genetic origin?*

**NO**       **SÍ**  (especificar)  
*No*                      *Yes*      *(specify)*

## Identificación genética de la línea celular. Método y resultado

*Genetic identity of the cell line. Method and result*

### Cariotipo/Karyotype

Euploide/Euploid

Anormal/Atypical

(especificar/specify)

Ver ANEXO 1/ See ANNEX 1.

## SECCIÓN 2

### Section 2

## Datos del Depositante

### Applicant Details

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Rosario Sanchez Pernaute	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Paseo Mikeletegi 81, 20009 San Sebastián (Guipúzcoa)
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> Fundación Inbiomed Laboratorio de células madre y reparación neural	<b>Teléfono (phone):</b> 94 3309064 x 225 <b>Fax:</b> 94 3308222 <b>E-mail:</b> rpernaute@inbiomed.org

## SECCIÓN 3

### Section 3

## Datos de la Línea Celular

### Details of Cell Line

<b>Tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica</b> <i>Tissue of origin and anatomic location of the biological sample</i> <b>Biopsia de piel de prepucio</b> Skin biopsy from the foreskin	
<b>Muestra biológica</b> <i>Biological sample</i> <b>Fresco</b> <input type="checkbox"/> <b>Crioconservado</b> <input checked="" type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>	
<b>Fecha de la donación del muestra biológica</b> <i>Date of donation of the biological sample</i> 2009	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 25/11/2009 (P3)

**Origen del soporte celular o acelular utilizado para la derivación, así como de los componentes de los medios de cultivo (si se describen en publicación, indicar además referencia)**

*Origin of the cellular or cellular free support used in derivation in addition to the components of the culture mediums (if they are described in a publication, please indicate the reference).*

Support: Human Newborn foreskin fibroblast (HFF-1 ATCC SCRC-1041)

Culture medium: Knockout DMEM supplemented with 2mmol/l GlutaMAX (Invitrogen), 50 µM β-mercaptoethanol, 10ng/ml basic fibroblast growth factor (bFGF) (Peprotech), 1% non-essential amino acids (Sigma-Aldrich), 20% Knockout Serum Replacement (Gibco) y 0.5% Penicilin-Streptomycin (Sigma-Aldrich)

**Mantenimiento de la línea: Line maintenance en HFF / on HFF**

**Ratio de pase:** *Passage ratio 1:2-1:3 cada 6-7días; 1:2-1:3 every 6-7days*

**Método de pase:** *Passage method mecánico, mechanical*

**Xenobióticos**  
*Xenobiotics*

si  
Yes

**no**  
*No*

**Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo**

**(forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma; otros)**

*Description of the morphological characteristics of the line in culture (form and size of the colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)*

**Colonias grandes poligonales, ligeramente aplanadas, de un tamaño entre 1-3 mm de diámetro de diversas formas con bordes lisos. Células de tamaño uniforme y una elevada relación núcleo/citoplasma.**

*Large and flat polygonal colonies, with uniformly sized cells of 1-3 mm of diameter. They several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio*

**Controles microbiológicos realizados (indicar detalladamente)**

*Microbiological controls carried out (indicate in detail)*

**Bacteriología**  
*(Bacteriology)*

**Micología**  
*(Mycology)*

**Micoplasma: PCR**  
*(Mycoplasma: by PCR) negative*

**Marcadores: Ver anexo 2.***Markers: See annex 2.*

	<b>Método</b> <b>(ARN/proteínas)</b>	<b>nº pase</b>	<b>resultado</b>	<b>comentarios</b>
	<i>Method</i> <i>(RNA/proteins)</i>	<i>Passage n.</i>	<i>results</i>	<i>comments</i>
<b>Oct 4</b>	<b>RNA</b>	<b>48</b>	<b>+</b>	
<b>Rex 1 (opcional/optional)</b>	<b>RNA</b>	<b>48</b>	<b>+</b>	
<b>Sox 2</b>	<b>RNA</b>	<b>48</b>	<b>+</b>	
<b>SSEA3</b>				
<b>SSEA4</b>	<b>Inmunofluorescencia</b>	<b>20</b>	<b>+</b>	
<b>TRA-1-60</b>				
<b>TRA-1-81</b>				
<b>Telomerasa/Telomerase (opcional/optional)</b>				
<b>Fosfatasa Alc. /Alkaline phosphatase</b>		<b>7</b>	<b>+</b>	
<b>Otros / Others</b>				
<b>Lin28A</b>	<b>RNA</b>	<b>48</b>	<b>+</b>	
<b>TERT</b>	<b>RNA</b>	<b>48</b>	<b>+</b>	
<b>NANOG</b>	<b>Inmunofluorescencia/RNA</b>	<b>20 y 48</b>	<b>+</b>	

**Capacidad de diferenciación: Ver anexos 4 y 5.***Differentiation capacity See annex 4 and 5.*

	<b>Ectodermo/ Ectoderm</b>			<b>Endodermo/Endoderm</b>			<b>Mesodermo/ Mesoderm</b>		
	<b>marcador</b>	<b>pase</b>	<b>resultado</b>	<b>marcador</b>	<b>pase</b>	<b>resultado</b>	<b>marcador</b>	<b>pase</b>	<b>resultado</b>
	<i>marker</i>	<i>passage</i>	<i>result</i>	<i>marker</i>	<i>passage</i>	<i>result</i>	<i>marker</i>	<i>passage</i>	<i>result</i>
<b>In Vitro</b>	<b>Tuj1</b>	<b>57</b>	<b>+</b>	<b>FOXA2</b>	<b>57</b>	<b>+</b>	<b>SMA</b>	<b>57</b>	<b>+</b>
<i>In vitro</i>							<b>MF20</b>	<b>57</b>	<b>+</b>
<b>In vivo/ in vivo (anexo5)</b>	<b>Método: formación de teratomas en ratones SCID</b>						<b>Resultado: +</b>		
	<b>pasage: 33</b>						<i>Method: teratoma formation in NOD SCID mice</i>		
							<i>Result: +</i>		

**OPCIONAL/OPTIONAL:****Reprogramación del perfil de expresión génica***Reprogramming of gene expression profile**Sí. Q-RT-PCR/RNA-seq de genes de pluripotencia (Oct4, Sox2, Nanog, Rex1, Lin28A, TERT)**Yes. Q-RT-PCR/RNA-seq of pluripotency genes (Oct4, Sox2, Nanog, Rex1, Lin28A, TERT)***Reprogramación del perfil de metilación del ADN***Reprogramming of DNA methylation profile**Not done***Longitud telomérica***Telomere length**Not done*

**Descripción de las características de diferenciación *in vitro***

*Description of the differentiation characteristics in vitro*

Los cuerpos embrioides (EBs) se cultivan en placas no adherentes en medio Knockout-DMEM, suplementado con 2 mM de l-glutamina, 10% de suero bovino fetal (FBS). Tras 4 días se transfieren a placas tratadas con gelatina para inducción de linajes meso/endo y ectodérmico en condiciones habituales. La caracterización se realizó mediante inmunofluorescencia. Anexo 4.

In vitro differentiation was done by embryoid body formation followed by induction of endo/meso and neuroectoderm derivatives using standard protocols. Characterization was performed by immunofluorescence See Annex 4.

**Datos de la determinación de pluripotencialidad *in vivo* o formación de teratomas**

*Data of the pluripotentiality determination in vivo or teratoma formation*

Inyección subcutánea en ratón nude de fragmentos de colonias de células indiferenciadas; teratoma extraído tras 20 semanas, fijación e inclusión en parafina y análisis de los teratomas mediante H/E y técnicas de inmunohistoquímica con marcadores para ectodermo, mesodermo y endodermo (ver Anexo 5).

Clumps of undifferentiated cells were injected in nude mice (sub cutaneously). Aprox 20 weeks later, the teratoma was extracted, fixed and analyzed by H/E microscopy and immunohistochemistry for the presence of ectoderm, endoderm and mesoderm markers (see Annex 5).

**Datos de la tipificación HLA**

*HLA typification data*

**Integración de los transgenes de reprogramación: gPCR para integración de provirus**

*Integration of reprogramming transgenes: gPCR for provirus integration*

**Silenciamiento de los transgenes de reprogramación: Q-RT-PCR. Ver anexo 3.**

*Silencing of reprogramming transgenes: Q-RT-PCR. See annex 3.*

**Mantenimiento a largo plazo en cultivo: > 20 pases**

*Long-term maintenance in culture: >20 passages*

**La línea se ha cultivado durante >30 pases**

*The line has been cultured during >30 passages*

**Pase en el momento del registro: P41**

*Passage at the time of the recording: P41*

**¿Ha sido la línea modificada genéticamente?**

*Has the line been genetically modified?*

Sí Yes

No No

**Comentarios/ Comments:**

**¿Se llevó a cabo un análisis clonal?**

*Has a clonal analysis been carried out?*

Sí/ Yes

No

**Resultado / Result**



**Otras observaciones o información relevantes** (a juicio del Investigador Principal):  
Other observations or relevant information (to the discretion of the Principal Investigator):

**Otras observaciones o información relevantes** (a rellenar por el BNLC):  
Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)

**Seguimiento de la línea** (a rellenar por el BNLC):  
Follow up of the line (to be completed by BNLC)

**SECCIÓN 4**

**Declaración**

**Confirmo que la información contenida en estos impresos es cierta y asumo total responsabilidad sobre la misma.**

*I confirm that the information contained in this form is true and I assume total responsibility for it.*

<p><b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b> <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>(Legal Representative of the Department/Centre)</i></p>  <p>Fecha/ Date: 4/7/14</p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b> <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p>Rosario Sánchez Pernaute</p>  <p>Fecha /Date 01/07/14</p>
<p><b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i></p> <p>JOSE MANUEL FRANCO DIRECTOR GENERAL</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i></p> <p>Paseo Mikeletegi 81 San Sebastián E-20009</p>	<p><b>Teléfono /Telephone:</b> +34 943309064 x221</p> <p><b>Fax:</b> +34 94330822</p> <p><b>E-mail:</b> jmfranco@inbiomed.org</p>