

# 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: IB PD-P2 (PDP2 B61)**

*Name of the line:*

**Investigador principal: Rosario Sánchez Pernaute**

*Principal Investigator:*

**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**   
*No*

**SÍ**  (especificar)  
*Yes (specify)*

Heterocigoto (Asintomático)  
*Heterozygous (Asymptomatic)*

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

*Is the pathological condition of genetic origin?*

**NO**   
*No*

**SÍ**  (especificar)  
*Yes (specify)*

Mutación en PINK1<sup>c1488+1G>A</sup> (1 allele)  
*PINK1<sup>c1488+1G>A</sup> mutation*

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

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

Información de la amplificación por PCR para detectar la mutación (exon 7 skipping) tanto en fibroblastos como en neuroblastos. **Anexo 1. see Annex 1**

### Cariotipo/Karyotype

**Euploide/Euploid**       **Anormal/Atypical**       (especificar/specify)

Ver ANEXO 2 / See ANNEX2

## SECCIÓN 2

*Section 2*

## Datos del Depositante

*Applicant Details*

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Rosario Sánchez Pernaute	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Paseo Mikeletegi 81, 20009 San Sebastián (Gipuzkoa)
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> Fundación Inbiomed - Laboratorio de células madre y reparación neural	<b>Teléfono (phone):</b> 943 30 90 64 Ext. 225 <b>Fax:</b> 943 30 82 22 <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> Biopsia de piel del brazo / Skin biopsy from the arm	
<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> 2010	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 10/02/2011

**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: HFF1 irradiados- irradiated HFF1*

**Ratio de pase:** *Passage ratio 1:3 semanal/weekly*

**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 present 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 negativo**

*(Mycoplasma: by PCR) negative*

<b>Marcadores:</b> <i>Markers</i>				
	<b>Método</b> <i>(ARN/proteínas)</i> <i>Method</i> <i>(RNA/proteins)</i>	<b>nº pase</b> <i>Passage n.</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>
Oct 4	IF/RNA	P33	+	
Nanog	IF/RNA	P33	+	
Rex 1 (opcional/ <i>optional</i> )	RNA	P33	+	
Sox 2	RNA	P33	+	
SSEA3				
SSEA4	IF	P27	+	
TRA-1-60				
TRA-1-81				
<b>Telomerasa/Telomerase (opcional/<i>optional</i>)</b>				
<b>Fosfatasa Alc. /Alkaline phosphatase</b>				
<b>Otros / Others</b>				
Lin28A	RNA	P33	+	
TERT	RNA	P33	+	

<b>Capacidad de diferenciación</b> <i>Differentiation capacity</i>									
	<b>Ectodermo/ Ectoderm</b>			<b>Endodermo/Endoderm</b>			<b>Mesodermo/ Mesoderm</b>		
	<b>marcador</b> <i>marker</i>	<b>pase</b> <i>passage</i>	<b>resultado</b> <i>result</i>	<b>marcador</b> <i>marker</i>	<b>pase</b> <i>passage</i>	<b>resultado</b> <i>result</i>	<b>marcador</b> <i>marker</i>	<b>pase</b> <i>passage</i>	<b>resultado</b> <i>result</i>
<b>In Vitro</b>	TH	P>20	+	AFP	P>20	+	SMA	P>20	+
<i>In vitro</i>	TUJ1	P>20	+	Foxa2	P>20	+	SAct	P>20	+
<b>In vivo/ in vivo</b>	<b>Método: formación de teratomas en ratones SCID</b>						<b>Resultado: +</b>		
<b>Pasaje: P38</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 de 6 genes de pluripotencia (Oct4, Sox2, Nanog, Rex1, Lin28A y TERT)  
*Yes. Q-RT-PCR of pluripotency genes (Oct4, Sox2, Nanog, Rex1, Lin28A and TERT)*

**Reprogramación del perfil de metilación del ADN**  
*Reprogramming of DNA methylation profile*  
No

**Longitud telomérica**  
*Telomere length*  
No

**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. Ver 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 intratesticular en ratones NOD SCID de clumps de células indiferenciadas y tras, aproximadamente, 9 semanas, análisis de los teratomas producidos mediante técnicas de inmunohistoquímica para ectodermo, mesodermo y endodermo (ver Anexo5).

*Clumps of undifferentiated cells were injected into the testis in NOD SCID mice. Around 9 weeks later teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm markers (see annex 5).*

**Datos de la tipificación HLA***HLA typification data*

Ver anexo 6.

See annex 6.

**Integración de los transgenes de reprogramación***Integration of reprogramming transgenes***Silenciamiento de los transgenes de reprogramación: RT-PCR o Q-RT-PCR. Ver anexo 7.***Silencing of reprogramming transgenes: RT-PCR o Q-RT-PCR. See annex 7.***Mantenimiento a largo plazo en cultivo: > 20 pases***Long-term maintenance in culture:>20 passages***Pase en el momento del registro P13***Passage at the time of the recording P13***¿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.*

<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> Jose Manuel Franco  Fecha/ Date: 26/05/2016	<b>Firma del Investigador Principal</b> <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Rosario Sanchez Pernaute  Fecha /Date 26/05/2016
<b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Jose Manuel Franco Director gerente	
<b>Postal Address:</b> Paseo Mikeletegi 81 Donostia/San Sebastián 20009	<b>Teléfono /Telephone:</b> 943309064  <b>Fax:</b>  <b>E-mail:</b> : jmfranco@inbiomed.org