

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-R1 (FH09-78 C4)

Name of the line:

Investigador principal: Rosario Sánchez Pernaute

Principal Investigator:

Tipo de célula de la que se obtiene la línea:

Cell type origin of the cell line

Fibroblastos humanos de piel

Adult human skin fibroblasts

¿El sujeto fuente tiene alguna patología?

Has the donor any pathological condition?

NO

No

SÍ (especificar)

Yes (specify)

Enfermedad de Parkinson

Parkinson disease

¿La patología es de origen genético?

Is the pathological condition of genetic origin?

NO

No

SÍ (especificar)

Yes (specify)

Mutación en LRRK2 R1441G

LRRK2 R1441G mutation

Identificación genética de la línea celular. Método y resultado

Genetic identity of the cell line. Method and result

Ver anexo 1. See annex 1.

Cariotipo/Karyotype

Euploide/Euploid Anormal/Atypical (especificar/specify)

Ver anexo 2. See annex 2.

SECCIÓN 2

Section 2

Datos del Depositante

Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Rosario Sánchez Pernaute	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Paseo Mikeletegi 81, 20009 San Sebastián (Guipúzcoa)
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Fundación Inbiomed Laboratorio de células madre y reparación neural	Teléfono (phone): 943 30 90 64 Ext. 225 Fax: 943 30 82 22 E-mail: rpernaute@inbiomed.org

SECCIÓN 3

Section 3

Datos de la Línea Celular

Details of Cell Line

Tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica: Biopsia de piel del brazo <i>Tissue of origin and anatomic location of the biological sample: Skin biopsy from the arm</i>	
Muestra biológica <i>Biological sample</i> Fresco <input type="checkbox"/> Crioconservado <input checked="" type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>	
Fecha de la donación del muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> 29-11-2009	Fecha del uso o descongelación (si congelado) <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 17-08-2010

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 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: por PCR Resultado negativo

(Mycoplasma: by PCR) Negative result

Marcadores: Ver anexo 3.*Markers: See annex 3.*

	Método (ARN/proteínas) <i>Method (RNA/proteins)</i>	nº pase <i>Passage n.</i>	resultado <i>results</i>	comentarios <i>comments</i>
Oct 4	IF/RNA	P24/ P40	+	
Nanog	IF/RNA	P24/ P40	+	
Rex 1 (opcional/optional)	RNA	P40	+	
Sox 2	RNA	P40	+	
SSEA3				
SSEA4	IF	P24	+	
TRA-1-60				
TRA-1-81				
Telomerasa/Telomerase (opcional/optional)				
Fosfatasa Alc. /Alkaline phosphatase				
Otros / Others				
TERT	RNA	P40	+	
Lin28A	RNA	P40	+	

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

	Ectodermo/ Ectoderm			Endodermo/Endoderm			Mesodermo/ Mesoderm		
	marcador <i>marker</i>	pase <i>passage</i>	resultado <i>result</i>	marcador <i>marker</i>	pase <i>passage</i>	resultado <i>result</i>	marcador <i>marker</i>	pase <i>passage</i>	resultado <i>result</i>
In Vitro	SOX2	P25	+	AFP	P56	+	SMA	P56	+
<i>In vitro</i>	TUJ1	P25	+	FoxA2	P56	+	SA	P56	+
	NESTIN	P25	+						
In vivo/ in vivo	Método: formación de teratomas en ratones SCID						Resultado: +		
Passage: 41	<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 intramuscular en ratones SCID de clumps de células indiferenciadas y tras, aproximadamente, 8 semanas, análisis de los teratomas producidos mediante técnicas de inmunohistoquímica para ectodermo, mesodermo y endodermo (ver Anexo 5)

Clumps of undifferentiated cells were injected into the muscle of SCID mice. Around 8 weeks later teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm (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: Q-RT-PCR. Ver anexo 7.***Silencing of reprogramming transgenes: 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 P48***Passage at the time of the recording P48***¿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

Confirmando 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.

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