

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)

Nombre de la línea:

Name of the line: hiPS-drg9

Investigador principal:

Principal Investigator: Kausalia Vijayaragavan

Tipo de célula de la que se obtiene la línea:

Cell type origin of the cell line

Newborn foreskin fibroblasts (Cat# CRL-2097, ATCC)

¿El sujeto fuente tiene alguna patología?

Has the donor any pathological condition?

NO **SÍ** (especificar) Normal human primary cells, commercially available and normal
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

Not performed

Cariotipo/Karyotype

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

G-Banding and CGH analysis is normal, confirmed tissue from male origin (46, XY)

Please refer to Annex 1a for G-Banding data and Annex 1b for CGH analysis

SECCIÓN 2
Section 2

Datos del Depositante
Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Kausalia Vijayaragavan	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> 81 Mikeletegi, 20009 San Sebastian Gipuzkoa Spain
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Inbiomed	Teléfono (phone): +34 943 309 064 Fax: E-mail: kvijayaragavan@inbiomed.com

Tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica <i>Tissue of origin and anatomic location of the biological sample</i> Newborn foreskin fibroblasts (Cat# CRL-2097, ATCC)	
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> unknown	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 21 July 2009

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) <i>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).</i> Feeder cell free support, cells were derived in serum-free cell culture medium conditioned with irradiated Mouse Embryonic Fibroblast (CF1), and supplemented with bFGF and IGF-II.

Mantenimiento de la línea: <i>Serum-free conditioned medium</i> Ratio de pase: 1:2, 1:3 Método de pase: <i>Mechanical passage, collagenase IV</i> Xenobióticos si <i>Xenobiotics</i> Yes
--

Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo

(forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma; otros): (ver Annex 2)

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): (see Annex 2)

Typical colonies is observed with defined borders and harbouring high density of round compacted cells with a nucleus/cytoplasm ratio >0.9. Cells are cultured without feeders using collagen matrix (Matrigel™) and serum-free condition medium supplemented with bFGF and IGF-II. In these conditions, like human embryonic stem cell culture, the colonies are surrounded of fibroblasts-like cells contributing in maintenance of stable cell culture (Bendall SC 2007, Nature 30;448(7157):1015-21). **Annex 2 for photomicrograph of hiPS-drg9 culture on Matrigel.**

Controles microbiológicos realizados (indicar detalladamente)

Microbiological controls carried out (indicate in detail)

Bacteriología

(Bacteriology)

TSB negative

Micología

(Mycology)

Not determined

Micoplasma: PCR

(Mycoplasma: by PCR)

Negative

Marcadores: (ver Annex 3) <i>Markers: (see Annex 3)</i>				
	Método (ARN/proteínas) <i>Method</i> <i>(RNA/proteins)</i>	nº pase <i>Passage n.</i>	resultado <i>results</i>	comentarios <i>comments</i>
Oct 4	Immunocytochemistry	p30	positive	
Nanog	Immunocytochemistry	p30	positive	
Rex 1 (opcional/optional)	-			
Sox 2	Immunocytochemistry	p30	positive	
SSEA3	Immunocytochemistry	p30	positive	
SSEA4	Immunocytochemistry	p30	positive	
TRA-1-60	Immunocytochemistry	p30	positive	
TRA-1-81	Flow cytometry	p30	positive	
Telomerasa/ <i>Telomerase (opcional/optional)</i>				
Otros / Others				

Capacidad de diferenciación: (ver Annex 4) <i>Differentiation capacity: (see Annex 4)</i>									
	Ectodermo/ Ectoderm			Endodermo/Endoderm			Mesodermo/ Mesoderm		
	marcador	pase	resultado	marcador	pase	resultado	marcador	pase	resultado
	<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>
In Vitro	Brn3a/ TuJ1	p30	positive	α -feto protein	p30	positive	SMA/SA	p30	positive
In Vivo	Método: Formación de teratomas en ratones NOND-SCID <i>Method:</i> teratoma formation in NOD-SCID mice					Resultado: positivo <i>Result:</i> positive			
	<i>In vivo</i> (p18)								

OPCIONAL/OPTIONAL:
Reprogramación del perfil de expresión génica <i>Reprogramming of gene expression profile</i>
<i>Not performed</i>
Reprogramación del perfil de metilación del ADN <i>Reprogramming of DNA methylation profile</i>
<i>Not performed</i>
Longitud telomérica <i>Telomere length</i>
<i>Not performed</i>

<p>Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vitro</i></p> <p>Able to spontaneously differentiate into all three lineages</p>
<p>Datos de la determinación de pluripotencialidad <i>in vivo</i> o formación de teratomas <i>Data of the pluripotentiality determination in vivo or teratoma formation</i></p> <p>Teratoma formation, tissue formation for all three germ layers</p>
<p>Datos de la tipificación HLA <i>HLA typification data</i></p> <p>ver Annex 5a; see Annex 5a</p>
<p>Integración de los transgenes de reprogramación: gPCR para integración de provirus <i>Integration of reprogramming transgenes: gPCR for provirus integration</i></p> <p>ver Annex 5b; see Annex 5b</p>
<p>Silenciamiento de los transgenes de reprogramación: RT-PCR o Q-RT-PCR <i>Silencing of reprogramming transgenes: RT-PCR o Q-RT-PCR</i></p> <p>ver Annex 5c; see Annex 5c</p>
<p>Mantenimiento a largo plazo en cultivo: > 20 pases <i>Long-term maintenance in culture: >20 passages</i></p> <p>Yes</p>
<p>Pase en el momento del registro <i>Passage at the time of the recording</i></p> <p>p35</p>

<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i></p> <p>Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Comentarios/ Comments:</p>	<p>¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i></p> <p>Sí/ Yes <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Resultado / Result</p> <p>Consistent positive colony formation after three rounds of FACS. Cells sorted using SSEA-3 and IGFR1 markers.</p>
--	--

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> Fecha/ Date:	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Dra Kausalia Vijayaragavan PhD Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i>	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Mikeletegi 81, Donostia-San Sebastian 20009	Teléfono /Telephone: Fax: E-mail: