

# **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*

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

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

<b>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)</b> <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.
---

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

**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*

<b>Marcadores: (ver Annex 3)</b> <i>Markers: (see Annex 3)</i>				
	<b>Método</b> <b>(ARN/proteínas)</b> <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>
<b>Oct 4</b>	Immunocytochemistry	p30	positive	
<b>Nanog</b>	Immunocytochemistry	p30	positive	
<b>Rex 1 (opcional/optional)</b>	-			
<b>Sox 2</b>	Immunocytochemistry	p30	positive	
<b>SSEA3</b>	Immunocytochemistry	p30	positive	
<b>SSEA4</b>	Immunocytochemistry	p30	positive	
<b>TRA-1-60</b>	Immunocytochemistry	p30	positive	
<b>TRA-1-81</b>	Flow cytometry	p30	positive	
<b>Telomerasa/</b> <i>Telomerase (opcional/optional)</i>				
<b>Otros / Others</b>				

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

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

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

<p><b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b>  <i>Has the line been genetically modified?</i></p> <p>Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p><b>Comentarios/ Comments:</b></p>	<p><b>¿Se llevó a cabo un análisis clonal?</b>  <i>Has a clonal analysis been carried out?</i></p> <p>Sí/ Yes <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> <b>Resultado / Result</b></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)



