

# 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-G2 (FH09-32 A4001)**

*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**

*Yes (specify)*

(especificar) Enfermedad de Parkinson  
*(specify) Parkinson's disease*

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

*Is the pathological condition of genetic origin?*

**NO**

*No*

**SÍ**

*Yes (specify)*

(especificar) Mutación en LRRK2 G2019S  
*(specify) LRRK2 G2019S mutation*

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

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

Información de la secuenciación para ver la mutación tanto en fibros como en iPS. Anexo 1.

### Cariotipo/Karyotype

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

**Ver anexo 2/ See annex 2**

## 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 (Guipúzcoa)
<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> <b>Biopsia de piel del brazo</b> 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> <b>Mayo de 2009</b> <i>May 2009</i>	<b>Fecha del uso o descongelación (si congelado)</b> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> <b>18 de diciembre de 2009</b> The 18th of December 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)**

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

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

	<b>Método (ARN/proteínas)</b> <i>Method (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>	<b>RNA</b>	<b>P47</b>	<b>+</b>	
<b>Nanog</b>	<b>IF/RNA</b>	<b>P8/P47</b>	<b>+</b>	
<b>Rex 1 (opcional/optional)</b>	<b>RNA</b>	<b>P47</b>	<b>+</b>	
<b>Sox 2</b>	<b>RNA</b>	<b>P47</b>	<b>+</b>	
<b>SSEA3</b>				
<b>SSEA4</b>	<b>IF</b>	<b>P8</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>P8</b>	<b>+</b>	
<b>Otros / Others</b>				
<b>Lin28A</b>	<b>RNA</b>	<b>P47</b>	<b>+</b>	
<b>TERT</b>	<b>RNA</b>	<b>P47</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>			
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>	
<b>In Vitro TH</b>	<b>P54</b>	<b>+</b>		<b>FoxA2</b>	<b>P54</b>	<b>+</b>		<b>SMA</b>	<b>P54</b>	<b>+</b>	
<i>In vitro</i> TUJ1	P54	+		<b>AFP</b>	P54	+		<b>SAct</b>	P54	+	

**In vivo/ in vivo** **Método: formación de teratomas en ratones SCID**  
**Pasaje: 42** *Method: teratoma formation in NOD SCID mice*

**Resultado: +**  
*Result: +*

**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: P30***Passage at the time of the recording: P30***¿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)


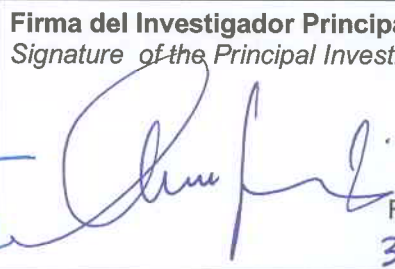
**Seguimiento de la línea** (a rellenar por el BNLC):  
Follow up of the line (to be completed by BNLC)

## 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.*

<b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b> (Representante legal del Departamento/Centro) (Legal Representative of the Department/Centre)  Fecha/ Date: 30/09/14	<b>Firma del Investigador Principal</b> Signature of the Principal Investigator  Fecha/Date 30/09/2014
<b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> Name and Position of the Person Representing the Centre:	JOSE MANUEL FRANCO DIRECTOR GENERAL.
<b>Dirección Postal:</b> Postal Address:	<b>Teléfono /Telephone:</b>  <b>Fax:</b>  <b>E-mail:</b>