

# 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*

Recibido 16.11.2015

Documentos que se acompañan:

- 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 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*

### SECCIÓN 1 *Section 1*

### Información General *General Information*

**Nombre de la línea:**

T-cell iPSC

**Investigador principal:**

*Principal Investigator:*

Pablo Menendez (Instituto Josep Carreras-Barcelona) y Clara Bueno (Instituto Josep Carreras-Barcelona)

**Tipo de célula de la que se obtiene la línea:**

*Cell type origin of the cell line*

Leucocitos (Linfocitos T CD3+) de unidades de cordón umbilical.

**¿El sujeto fuente tiene alguna patología?**

*Has the donor any pathological condition?*

**NO**       **SÍ**  (especificar)

**¿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*

En el caso de la línea T-cell iPSC se han confirmado los reordenamientos de los genes del TCR . Esto se ha realizado por PCR y/o por secuenciación. (VER ANEXO 1)

### Cariotipo/Karyotype

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

Se ha realizado bandeo G en 20 metafases tras 20 pases en cultivo y las células son euploides. (VER ANEXO 1)

## SECCIÓN 2

### Section 2

## Datos del Depositante

### Applicant Details

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Pablo Menendez Clara Bueno	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Pablo Menéndez PhD ICREA Research Professor Josep Carreras Leukaemia Research Institute Carrer Casanova 143. 08036. Barcelona. Spain
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> Josep Carreras Leukaemia Research Institute	<b>Teléfono (phone):</b> 935572809 <b>Fax:</b> 933231751 <b>E-mail:</b> <a href="mailto:pmenendez@carrerasresearch.org">pmenendez@carrerasresearch.org</a>

## 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> La muestra procede de unidades de cordón umbilical procedentes de banco de cordón umbilical de Málaga	
<b>Muestra biológica</b> <i>Biological sample</i> <b>Fresco</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>Crioconservado</b> <input type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <input checked="" type="checkbox"/> <i>Cryopreserved</i> <input type="checkbox"/>	
<b>Fecha de la donación del muestra biológica</b> <i>Date of donation of the biological sample</i> 2013	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> La muestra se procesó y se utilizó el mismo día que fue recibida

**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).*

Las iPSC se han generado en MEFs de la cepa CF1, irradiados. Se han mantenido en MEFS. Luego se han pasado y adaptado a MSC (células mesenquimales). Siempre se han crecido con medio de ESC convencional (medio condicionado por MEFs; Menendez et al Mol Ther 2004) que contiene KO-DMEM+KO-SR+L-Glu+8ng de bFGF. (Ver ANEXO-1)

Las iPSC se han generado con virus de sendai monocistronicos (SeV-OKSM).

**Mantenimiento de la línea: Line maintenance**

En MEFs y en MSCs. Se mantiene con medio de ESC convencional que contiene KO-DMEM+KO-SR+L-Glu+8ng de bFGF. (Ver ANEXO-1)

**Ratio de pase: Passage ratio**

Se ha estado pasando 1:2, 1:3, 1:4 y 1:10 sin cambios en su estatus pluripotente.

**Método de pase: Passage method**

Se pasan con colagenasa/dispa.

**Xenobióticos** **si**

**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)*

Las colonias son típicas de iPSC o hESC. Tienen una alta relación núcleo:citoplasma. Hay colonias de tamaños diferentes pero todas tienen fenotipo epitelial excepto las de los bordes donde hay alguna célula haciendo EMT hacia diferenciación. (VER ANEXO 1)

**Controles microbiológicos realizados (indicar detalladamente)**

*Microbiological controls carried out (indicate in detail)*

**Bacteriología**

*(Bacteriology)*

No se ha testado.

**Micoplasma: PCR**

*(Mycoplasma: by PCR)*

Las células se han testado cada 4-5 semanas para micoplasma y son negativas por PCR. (VER ANEXO 1)

**Marcadores: (VER ANEXO 1)**

*Markers*

	Método (ARN/proteínas)	nº pase	resultado	comentarios
Oct 4	ARN	p20	+	
Nanog	ARN	p20	+	
Rex 1 (opcional/optional)	ARN	p20	+	
Sox 2	ARN	p20	+	
SSEA3	proteína	p20	+	
SSEA4	proteína	p20	+	
TRA-1-60	proteína	p20	+	
TRA-1-81	proteína	p20	+	
Fosfatasa Alc.	proteína	p20	+	

**Capacidad de diferenciación (VER ANEXO 1 (in vitro) y ANEXO 1 (in vivo))***Differentiation capacity*

**Ectodermo/ Ectoderm**  
**marcador pase resultado**  
*marker passage result*

**Endodermo/Endoderm**  
**marcador pase resultado**  
*marker passage result*

**Mesodermo/ Mesoderm**  
**marcador pase resultado**  
*marker passage result*

**In Vitro****In vivo/ in vivo****Método:**  
*Method:***teratomas s.c****Resultado: positivo (3 germ layers)**  
*Result:***Reprogramación del perfil de metilación del ADN***Reprogramming of DNA methylation profile*

Los promotores de NANOG y OCT4 se demetilan en las iPSC (VER ANEXO 1)

**Descripción de las características de diferenciación *in vitro****Description of the differentiation characteristics in vitro*

Las células se han diferenciado con éxito a fibroblastos, y células hematopoyéticas CD45. (VER ANEXO 1)

**Datos de la determinación de pluripotencialidad *in vivo* o formación de teratomas***Data of the pluripotentiality determination in vivo or teratoma formation*

1 T25 al 70% de confluencia se ha inyectado vía subcutánea en ratones NSG. Tras 6 semanas han aparecido teratomas que han sido fijados y analizados por hematoxilina eosina mostrando tejidos de las 3 capas germinales. No, pero mostramos que los virus de Sendai se apagan (VER ANEXO 1)

**Datos de la tipificación HLA***HLA typification data***Integración de los transgenes de reprogramación: gPCR para integración de provirus***Integration of reprogramming transgenes: gPCR for provirus integration*

Los genes no se integran porque los SeV son no integrativos.

**Silenciamiento de los transgenes de reprogramación: RT-PCR o Q-RT-PCR***Silencing of reprogramming transgenes: RT-PCR o Q-RT-PCR*

Mostramos por qPCR que los virus de Sendai se apagan (VER ANEXO 1)

**Mantenimiento a largo plazo en cultivo: > 20 pases***Long-term maintenance in culture: >20 passages*

Las iPSC se han mantenido por más de 30 pases y mantienen su pluripotencia y cariotipo normal. Son micoplasma negativas y sobreviven perfectamente a la congelación y descongelación.

**Pase en el momento del registro***Passage at the time of the recording*

Hay iPSc congeladas en distintos tiempos

<p><b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b> <i>Has the line been genetically modified?</i></p> <p><b>Sí</b> Yes <input type="checkbox"/>                      <b>No</b> 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><b>Sí/ Yes</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>No</b> <input type="checkbox"/>      <b>Resultado / Result clonal</b></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

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>    Fecha /Date: November 10 2015	<b>Firma del Investigador Principal</b> <i>Signature of the Principal Investigator</i>    Fecha /Date: November 10th, 2015
<b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Carles Esquerre i Victori	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i>  Carles Esquerre i Victori Gerente Instituto Josep Carreras contra la leucemia Muntaner 383, 3rd 2n 08021 Barcelona	<b>Teléfono /Telephone:</b> 935543050 <b>Fax:</b> 934651472 <b>E-mail:</b> cesquerre@ <a href="http://carrerasresearch.org">carrerasresearch.org</a>