

# 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:** CBiPS32-3F-10

*Name of the line: CBiPS32-3F-10*

**Investigador principal:** Juan Carlos Izpisúa Belmonte, Anna Veiga Lluch, Alessandra Giorgetti

*Principal Investigator:*

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

*Cell type origin of the cell line*

Células CD133+ de sangre de cordón umbilical

*CD133+ cells from cord blood*

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

*Has the donor any pathological condition?*

**NO**

*No*

**SÍ**  (especificar)

*Yes (specify)*

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

*Is the pathological condition of genetic origin?*

**NO**

*No*

**SÍ**  (especificar)

*Yes (specify)*

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

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

### Cariotipo/Karyotype

**Euploide/Euploid**

**Anormal/Atypical**

(especificar/specify) 46, XX

Ver Anexo 4

See Annex 4

## SECCIÓN 2

*Section 2*

### Datos del Depositante

*Applicant Details*

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Juan Carlos Izpisua Belmonte, Anna Veiga Lluch, Alessandra Giorgetti	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Dr Aiguader 88 08003 Barcelona
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona	<b>Teléfono (phone):</b> 93 3160360 <b>Fax:</b> 93 3160362 <b>E-mail:</b> blc@cmrb.eu

## 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> Células CD133+ de sangre de cordón Cd133+ cells from cord blood	
<b>Muestra biológica</b> <i>Biological sample</i> <b>Fresco</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>Crioconservado</b> <input 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> 17.08.2009	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 17.08.2009

**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 foreskin fibroblasts (ATCC, American Type Culture Collection, CCD1112Sk).  
Culture medium: Knockout Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 2 mmol/l GlutaMAX (Gibco, InVitrogen corporation), 0,05mmol/l 2-mercaptoethanol (Gibco, InVitrogen corporation), 8 ng/ml basic fibroblast growth factor (bFGF) (Invitrogen), 1% non-essential amino acids (Cambrex), 20% Knockout Serum Replacement (InVitrogen) y 0,5% Penicillin-Streptomycin (Gibco, InVitrogen corporation).

*Generation of Induced Pluripotent Stem Cells from Human Cord Blood Using OCT4 and SOX2.*  
*A. Giorgetti, N.Montserrat, T.Aasen, F.Gonzalez, I.Rodriguez-Pizà, R.Vassena, A.Raya, S.Boué, MJ.Barrero, B.Aran, M.Torrabadella, A.Veiga, JC. Izpisúa Belmonte.*  
*Cell Stem Cell 2009, 5; 353-357.*

**Mantenimiento de la línea: Line maintenance**

**Ratio de pase:** *Passage ratio* 1:2-1:3 cada 6/7 días; 1:2-1:3 every 6/7 days

**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 have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.*

**Controles microbiológicos realizados (indicar detalladamente)**

*Microbiological controls carried out (indicate in detail)*

Ver Anexo 2  
*See Annex 2*

**Bacteriología** negativo  
*(Bacteriology)*

**Micología** negativo  
*(Mycology)*

**Micoplasma: PCR negativo**  
*(Mycoplasma: by PCR)*

**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>	inmunofluorescencia	7	+	
<b>Nanog</b>	inmunofluorescencia	7	+	
<b>Rex 1 (opcional/optional)</b>				
<b>Sox 2</b>	inmunofluorescencia	7	+	
<b>SSEA3</b>	inmunofluorescencia	7	+	
<b>SSEA4</b>	inmunofluorescencia	7	+	
<b>TRA-1-60</b>	inmunofluorescencia	7	+	
<b>TRA-1-81</b>	inmunofluorescencia	7	+	
<b>Telomerasa/Telomerase (opcional/optional)</b>				
<b>Fosfatasa Alc. /Alkaline phosp.</b>	Actividad	6	+	
<b>Otros / Others</b>				

**Capacidad de diferenciación***Differentiation capacity*

	<b>Ectodermo/ Ectoderm</b>			<b>Endodermo/Endoderm</b>			<b>Mesodermo/ Mesoderm</b>		
	<b>marcador</b> <i>marker</i>	<b>pase</b> <i>passage</i>	<b>resultado</b> <i>result</i>	<b>marcador</b> <i>marker</i>	<b>pase</b> <i>passage</i>	<b>resultado</b> <i>result</i>	<b>marcador</b> <i>marker</i>	<b>pase</b> <i>passage</i>	<b>resultado</b> <i>result</i>
<b>In Vitro</b> <i>In vitro</i> Anexo 5	Tuj1	8	+	AFP FoxA2	8 8	+	SMA	8	+
<b>In vivo/ in vivo (ver Anexo 6)</b> <i>pase/passage 10</i>	<b>Método:</b> formación de teratomas en ratones SCID <i>Method: teratoma formation in SCID mice</i>						<b>Resultado:</b> + <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, Klf4, C-Myc, Nanog, Rex1 y Cripto)

Yes. Q-RT-PCR of pluripotency genes (Oct4, Sox2, Klf4, C-Myc, Nanog, Rex1 and Cripto)

**Reprogramación del perfil de metilación del ADN***Reprogramming of DNA methylation profile*

Sí. Análisis de metilación del DNA del promotor Oct4. El resultado indicó activación estable del gen.

Yes. Bisulfite mutagenesis DNA analysis of Oct4 promoter methylation. The result indicated stable activation of the gene.

**Longitud telomérica***Telomere length*

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

Mesodermo: cultivo de cuerpos embrioides (EBs) en medio de cultivo suplementado con ácido ascórbico.  
 Endodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio de cultivo. Ectodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio N2/B27 sobre células PA6 (ver Anexo 5).

*Mesoderm: Embryoids bodies (EBs) cultured in culture medium supplemented with ascorbic acid. Endoderm: EBs culture in culture medium. Ectoderm: EBs culture in N2/B27 on PA6 cells (see Annex 5).*

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

Inyección intratesticular 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 6).

*Clumps of undifferentiated cells were injected into the testis of SCID mice. Around 8 weeks later teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm (see Annex 6).*

**Datos de la tipificación HLA** ver Anexo 1*HLA typification data see Annex 1***Integración de los transgenes de reprogramación: gPCR para integración de provirus***Integration of reprogramming transgenes: gPCR for provirus integration*

La gPCR evidenció la integración de los 3 genes; OCT4, SOX2 y KLF4.  
*gPCR showed the integration of the 3 genes; OCT4, SOX2 and KLF4*

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

Se evidenció la silenciación de los 3 genes de reprogramación.  
*Silencing of reprogramming genes has been shown*

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

La línea se ha mantenido en cultivo durante 28 pases  
*The line has been culture during 28 passages*

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

28

**¿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

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> (Representante legal del Departamento/Centro) (Legal Representative of the Department/Centre)  Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona Center of Regenerative Medicine in Barcelona Dr. Aiguader, 88 08003 BARCELONA NIF G-63687222 Fecha/Date: 21/09/2010	<b>Firma del Investigador Principal</b> Signature of the Principal Investigator  Fecha/Date: 21/09/2010
<b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> Name and Position of the Person Representing the Centre: Miguel Gómez Clares. Presidente de la Junta de Gobierno	
<b>Dirección Postal:</b> Postal Address: Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona Dr. Aiguader, 88 08003. Barcelona	<b>Teléfono /Telephone:</b> +34 93 316 03 00 <b>Fax:</b> +34 93 316 03 01 <b>E-mail:</b> com@cmrb.eu