

# 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:**

*Name of the line:*

[AD]FiPSAG07645-4F-17

**Investigador principal:**

*Principal Investigator: Juan Carlos Izpisúa Belmonte*

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

*Cell type origin of the cell line*

Fibroblastos humanos adultos comerciales (Ref. Coriell AG07645) de piel de de paciente con un 50% de riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer. Presentan la mutación A246E en el gen PSEN1 (ENFERMEDAD DE ALZHEIMER, FAMILIAR, TIPO 3)

*Adult human commercial fibroblasts (Coriell Ref. AG07645) from arm skin of a patient with 50% at risk for Alzheimer disease with the mutation A246E in PSEN1 gene (ALZHEIMER DISEASE, FAMILIAL, TYPE3.*

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

*Has the donor any pathological condition?*

**NO**

*No*

**SÍ**

*Yes (specify)*

Portador de la mutación familiar:

*A246E en el gen PSEN1*

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

*Is the pathological condition of genetic origin?*

**NO**

*No*

**SÍ**

*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

## SECCIÓN 2

### Section 2

## Datos del Depositante

### Applicant Details

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Juan Carlos Izpisúa Belmonte	<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> 93 316 03 03 <b>Fax:</b> 93 316 03 01 <b>E-mail:</b> osr@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> Fibroblastos humanos adultos de biopsia de piel de brazo. <i>Adult human fibroblasts from arm skin biopsy</i>	
<b>Muestra biológica</b> <i>Biological sample</i> Fibroblastos humanos adultos comerciales (AG07645) de piel de de paciente con un 50% de riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer. Presentan la mutación A246E en el gen PSEN1 .(ENFERMEDAD DE ALZHEIMER, FAMILIAR, TIPO 3) <i>Adult human commercial fibroblasts (AG07645) from arm skin of a patient with 50% at risk for Alzheimer disease with the mutation A246E in PSEN1 gene (ALZHEIMER DISEASE, FAMILIAL, TYPE3.</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> 05.01.2009 Fibroblastos comerciales (AG07645) de Coriell Institute Commercial fibroblast (AG07645) from Coriell Institute	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 19.02.2009

**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).

**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</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>	inmunofluorescencia	4	+	
<b>Nanog</b>	inmunofluorescencia	4	+	
<b>Rex 1 (opcional/optional)</b>				
<b>Sox 2</b>	inmunofluorescencia	4	+	
<b>SSEA3</b>	inmunofluorescencia	4	+	
<b>SSEA4</b>	inmunofluorescencia	4	+	
<b>TRA-1-60</b>	inmunofluorescencia	4	+	
<b>TRA-1-81</b>	inmunofluorescencia	4	+	
<b>Telomerasa/Telomerase (opcional/optional)</b>				
<b>Fosfatasa Alc. /Alkaline phosphatase</b>		19	+	
<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	6	+	AFP FoxA2	6	+	SMA	6	+

**In vivo/ in vivo**  
**pase/passage: 6**  
(Anexo 6)

**Método:** Formación de teratomas en ratones SCID  
*Method: teratoma formation in SCID mice*

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

### OPCIONAL/OPTIONAL:

#### Reprogramación del perfil de expresión génica

*Reprogramming of gene expression profile*

#### Reprogramación del perfil de metilación del ADN

*Reprogramming of DNA methylation profile*

#### 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 qPCR evidenció la integración de los 4 genes; OCT4, SOX2, KLF4 y c-myc.  
*qPCR showed the integration of the 4 genes; OCT4, SOX2 and KLF4 and c-myc*

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

El gen de reprogramación Sox-2 no está silenciado.  
*The Sox-2 reprogramming gene is not silenced*

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

La línea se ha mantenido en cultivo durante 21 pases  
*The line has been cultured during 21 passages*

**Pase en el momento del registro: 21***Passage at the time of the recording***¿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 X**Resultado / Result**

**Otras observaciones o información relevantes** (a juicio del Investigador Principal):

Other observations or relevant information (to the discretion of the Principal Investigator):

Se ha producido la línea de células iPS usando una infección retroviral para introducir en las células los siguientes factores de transcripción: Oct-4, Sox2, Klf-4 y c-Myc. Vector utilizado pMSCV modificado que permite la expresión de proteínas FLAG\_tagged N-terminal.

*We have produced this iPS cell line using a retroviral infection to deliver in to the cells the selected four transcription factors: Oct-4, Sox2, Klf-4 and c-Myc. Vector: pMSCV which allows the expression of N-terminal FLAG-tagged proteins*

De acuerdo con la política del NIGMS Repository, las líneas de células iPS creadas a partir de líneas celulares procedentes de este banco son consideradas como "Highly Unique Biological Resource" y pueden ser distribuidas a otros investigadores mediante MTA, que debe seguir una serie de requisitos según la Sección 4, Pág. 4 (ver modelo del MTA del NIGMS Repository adjunto)

*According to NIGMS Repository policy, iPSCs created from NIGMS Repository cell lines are considered a "Highly Unique Biological Resource" and may be distributed to other researchers, following the requirements outlined on Page 4, Section 4, "Development of a Highly Unique Biological Resource," of the NIGMS Human Genetic Cell Repository Material Transfer Agreement MTA.*

*The agreement to transfer the Highly Unique Resource to a Secondary Recipient must include: (1) a statement naming the Repository number of the cell line from which the Highly Unique Resource was derived; (2) a statement that the Secondary Recipient must acknowledge the Repository and the cell line number(s) in any publications or presentations based on the utilization of the NIGMS Repository Sample(s); (3) a statement prohibiting the use of the unmodified Highly Unique Resource for human experimentation or commercialization; and (4) a statement that the Highly Unique Resource obtained from different sources will not have undergone the standard quality control of the Repository.*

*The terms of the agreement between the investigator who developed the Highly Unique Resource and the Secondary Recipient who obtains the Highly Unique Resource must be consistent with NIH's Simple Letter of Agreement for the Transfer of Materials or the Uniform Biological Material Transfer Agreement. Both of these documents can be found at:*

*[http://www.ott.nih.gov/forms\\_model\\_agreements/forms\\_model\\_agreements.aspx#MTACTA](http://www.ott.nih.gov/forms_model_agreements/forms_model_agreements.aspx#MTACTA).*

*The NIGMS Repository Sample(s) may not be sold, leased, or licensed for commercial purposes but may be used for internal non-profit and for-profit research purposes.*

**Otras observaciones o información relevantes** (a rellenar por el BNLC):

Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)

Ver MTA adjunto

**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> <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>(Legal Representative of the Department/Centre)</i>  Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona Center of Regenerative Medicine in Barcelona Fecha/Date: 03/12/2012	<b>Firma del Investigador Principal</b> <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Fecha/Date 03/12/2012
<b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Miguel Gómez Clares - Gerente	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona Dr. Aiguader 88, 7ª planta 08003. Barcelona.	<b>Teléfono /Telephone:</b> 93 316 03 00 <b>Fax:</b> 93 316 03 01 <b>E-mail:</b> gerencia@cmrb.eu