

# 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). Anexos 1-5  
*Others (specify) Annexes 1-5*

### SECCIÓN 1 *Section 1*

### Información General *General Information*

**Nombre de la línea: iPS0924#6**  
*Name of the line: iPS0924#6*

**Investigador principal: Ángel Raya, Adolfo López de Munain.**  
*Principal Investigator: Ángel Raya, Adolfo López de Munain.*

**Tipo de célula de la que se obtiene la línea: Fibroblastos epidérmicos.**  
*Cell type origin of the cell line: Epidermal fibroblasts.*

**¿El sujeto fuente tiene alguna patología?**  
*Has the donor any pathological condition?*

**NO**       **SÍ**  (especificar) Distrofia de Cinturas de tipo 2A (LGMD2A)  
*No*                      *Yes*                      *(specify)*                      *Limb Girdle Muscular Dystrophy type 2A (LGMD2A)*

**¿La patología es de origen genético?**  
*Is the pathological condition of genetic origin?*

**NO**       **SÍ**  (especificar) CAPN3 Exón 22 AG-TCATCT / Intrón 14 1782+1072 G>C.  
*No*                      *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> Ángel Raya	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Baldiri Reixac 15-21, 08028 Barcelona.
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC)	<b>Teléfono (phone):</b> 93 402 0537 <b>Fax:</b> 93 402 0183 <b>E-mail:</b> araya@ibecbarcelona.eu

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Adolfo López de Munain	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Avenida Dr. Begiristain s/n, 20014 San Sebastián.
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> Instituto de Investigación Sanitaria Biodonostia.	<b>Teléfono (phone):</b> 943 006 294 <b>Fax:</b> 943 006 250 <b>E-mail:</b> <a href="mailto:adolfojose.lopezdemunainarregui@osakidetza.net">adolfojose.lopezdemunainarregui@osakidetza.net</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> Biopsia de piel de abdomen Skin biopsy from the abdomen	
<b>Muestra biológica</b> <i>Biological sample</i> <p style="text-align: right;">Fresco <input checked="" type="checkbox"/>      Criopreservado <input type="checkbox"/> Fresh                                      Cryopreserved</p>	
<b>Fecha de la donación del muestra biológica</b> <i>Date of donation of the biological sample</i> 26 May 2014	<b>Fecha del uso o descongelación (si congelado)</b> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 26 May 2014

**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).*

*Raya A et al. Nature protocols 2010; 5(4): 647-60*

**Mantenimiento de la línea:** *Line maintenance en HFF/on HFF*

**Ratio de pase:** *Passage ratio 1:2 – 1:4*

**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, de 1-3 mm de diámetro, de diversas formas y con bordes lisos y bien definidos. Células de tamaño uniforme y un elevado ratio núcleo/citoplasma.

Large polygonal colonies of 1-3mm of diameter, several shapes and well-defined edges. Uniformly sized cells with high nucleus/cytoplasm ratio.

**Controles microbiológicos realizados (indicar detalladamente)**

*Microbiological controls carried out (indicate in detail)*

**Bacteriología**  
*(Bacteriology)*

**Micología**  
*(Mycology)*

**Micoplasma: PCR**  
*(Micoplasma: by PCR)*

**Marcadores: ver Anexo 1***Markers: See Annex 1*

	<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	6	+	
<b>Nanog</b>	inmunofluorescencia	6	+	
<b>Rex 1</b>	q-RT-PCR	6	+	
<b>Sox 2</b>	inmunofluorescencia	6	+	
<b>SSEA3</b>	inmunofluorescencia	6	+	
<b>SSEA4</b>	inmunofluorescencia	6	+	
<b>TRA-1-60</b>	inmunofluorescencia	6	+	
<b>TRA-1-81</b>	inmunofluorescencia	6	+	
<b>Telomerasa/Telomerase</b>	-			
<b>Fosfatasa Alc.</b>	Actividad	4	+	
<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>Anexo 3</i>	<b>TUJ1</b>	<b>10</b>	<b>+</b>	<b>FoxoA2</b>	<b>10</b>	<b>+</b>	<b>SMA</b>	<b>10</b>	<b>+</b>
<b>In vitro</b> <i>Annex 3</i>	<b>GFAP</b>	<b>10</b>	<b>+</b>				<b>Gata4</b>	<b>10</b>	<b>+</b>
<b>In vivo/ in vivo</b>	<b>Método:</b> <i>Method:</i>					<b>Resultado:</b> <i>Result:</i>			

**OPCIONAL/OPTIONAL:****Reprogramación del perfil de expresión génica (ver anexo 4)***Reprogramming of gene expression profile (see Annex 4)***Reprogramación del perfil de metilación del ADN (ver anexo 4)***Reprogramming of DNA methylation profile (see Annex 4)***Longitud telomérica***Telomere length*

<p><b>Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i></b>  <i>Description of the differentiation characteristics in vitro</i></p> <p>Mesodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio de cultivo suplementado con ácido ascórbico. Endodermo: cultivo de cuerpos embrioides. Ectodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio N2/B27 (ver Anexo 3)  Mesoderm: Embryoid bodies cultured in culture médium supplemented with ascorbic acid. Endoderm: Embryoid bodies culture. Ectoderm: Embryoid bodies cultured in N2B27 medium (see Annex 3).</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><b>Datos de la tipificación HLA</b>  <i>HLA typification data</i></p>
<p><b>Integración de los transgenes de reprogramación: por southern blot (ver anexo 5)</b>  <i>Integration of reprogramming transgenes: southern blot (see annex 5)</i></p>
<p><b>Silenciamiento de los transgenes de reprogramación: RT-PCR o Q-RT-PCR (Anexo 5) Positivo</b>  <i>Silencing of reprogramming transgenes: RT-PCR o Q-RT-PCR (Annex 5) Positive</i></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><b>Pase en el momento del registro: pase 8 y 9</b>  <i>Passage at the time of the recording: passage 8 and 9</i></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 type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/>      <b>Resultado / Result</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)

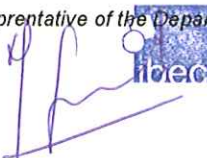

**Seguimiento de la línea (a rellenar por el BNLC):**  
Follow up of the line (to be completed by BNLC)



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.

<p><b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b>          (Representante legal del Departamento/Centro)          (Legal Representative of the Department/Centre)</p>  <p><b>iberca</b> Institut de bioenginyeria de Catalunya          Josep Samitier Director</p> <p>Fecha/Date: 22/11/2015</p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b>          Signature of the Principal Investigator</p>  <p>Fecha/Date          5/01/2015</p>
<p><b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> JOSEP SAMITIER MARTI          Name and Position of the Person Representing the Centre: DIRECTOR</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b>          Postal Address:</p> <p>INSTITUT DE BIOENGINYERIA DE CATALUNYA          Baldià Reixac 10-12          08028          Barcelona</p>	<p><b>Teléfono /Telephone:</b> +34 (93) 403 9706  <b>Fax:</b> +34 (93) 403 9702  <b>E-mail:</b> jsamitie@iberca.barcelona.eu</p>

<p><b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b>          (Representante legal del Departamento/Centro)          (Legal Representative of the Department/Centre)</p>  <p><b>Biodonostia</b>          asociación Biodonostia          Pº Dr. Beguiristain, s/n          20014 Donostia-San Sebastián          CIF: G-75020313</p> <p>Fecha/Date: 10 Diciembre 2014</p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b>          Signature of the Principal Investigator</p>  <p>Fecha/Date          10 Diciembre 2014</p>
<p><b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> DIRECTOR CIENTÍFICO DEL IIS BIODONOSTIA          Name and Position of the Person Representing the Centre: JULIO ARRIZABALAGA AGUIRRE ARZULDEGUI</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b>          Postal Address:</p> <p>INSTITUTO BIODONOSTIA          P/DOCTOR BEGUIRISTAIN S/N          20014 DONOSTIA - SAN SEBASTIÁN          GIPUZKOA</p>	<p><b>Teléfono /Telephone:</b> 943 00 60 12  <b>Fax:</b> 943 00 62 50  <b>E-mail:</b> direccion@biodonostia.org</p>

**ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR IPS0924#6  
EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES.**

**Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia IPS0924#6**

**Anexo 2: Cariotipo IPS0924#6**

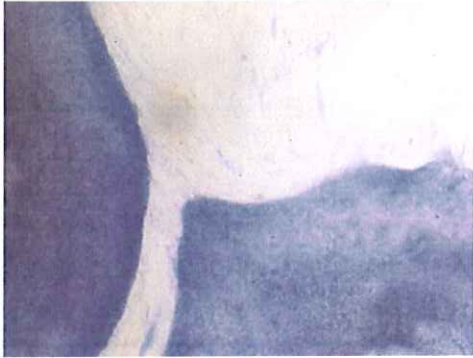
**Anexo 3: Diferenciación *in vitro* IPS0924#6**

**Anexo 4: Reprogramación del perfil de expresión génica y del perfil de metilación del DNA IPS0924#6**

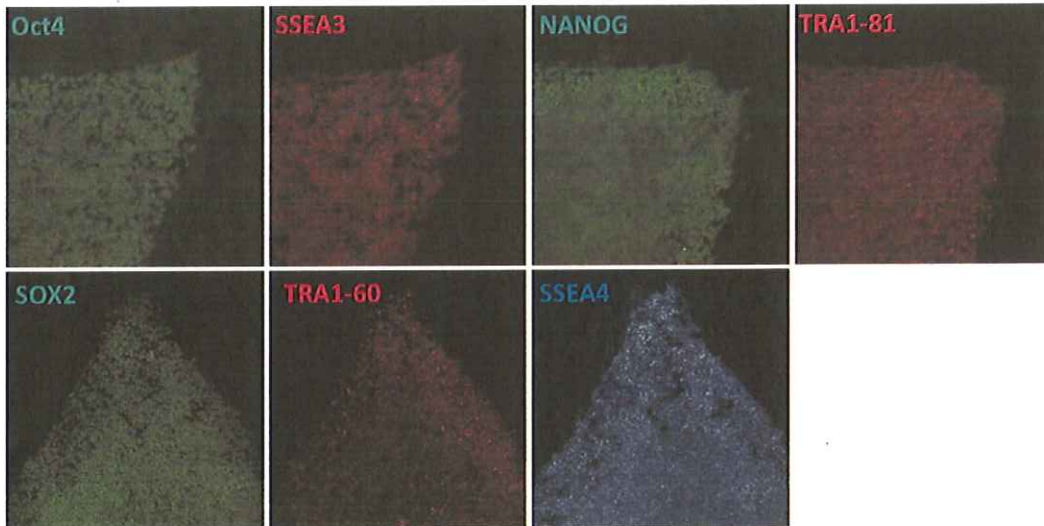
**Anexo 5: Integración de los transgenes de reprogramación y silenciamiento de los transgenes de reprogramación IPS0924#6**



**Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia iPS0924#6**



Actividad fosfatasa alcalina de la línea de células madre pluripotentes iPS0924#6.

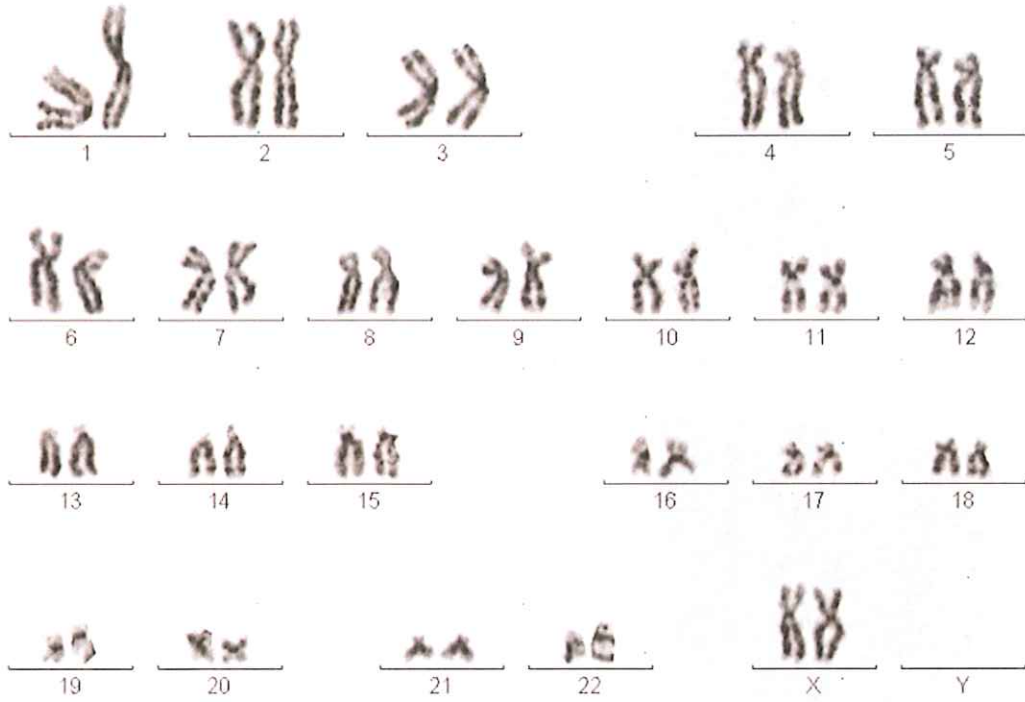


Inmunoreactividad de la línea de células madre pluripotentes iPS0924#6 para Oct4, SSEA3, Nanog, TRA1-81, Sox2, TRA1-60, SSEA4.

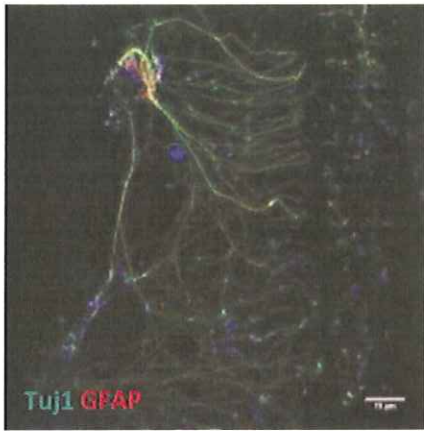
**Anexo 2: Cariotipo iPS0924#6**

Nombre de la muestra: iPS0924#6

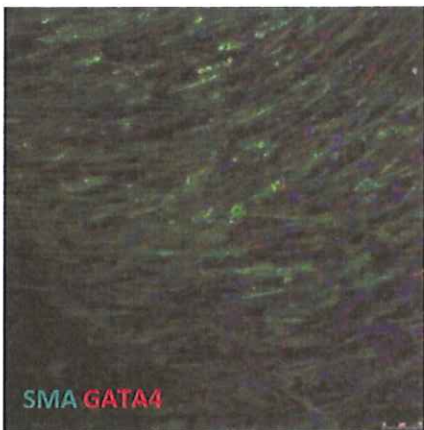
Resultado: 46, XX



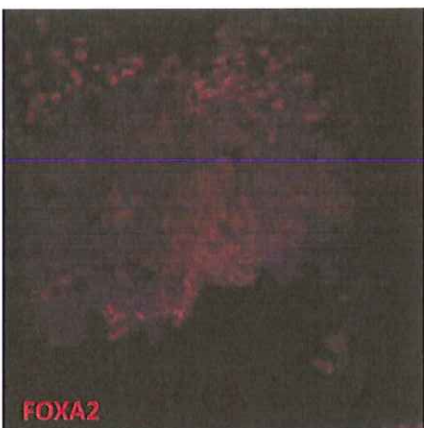
**Anexo 3: Diferenciación *in vitro* iPS0924#6**



Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para Tuj1 y GFAP.

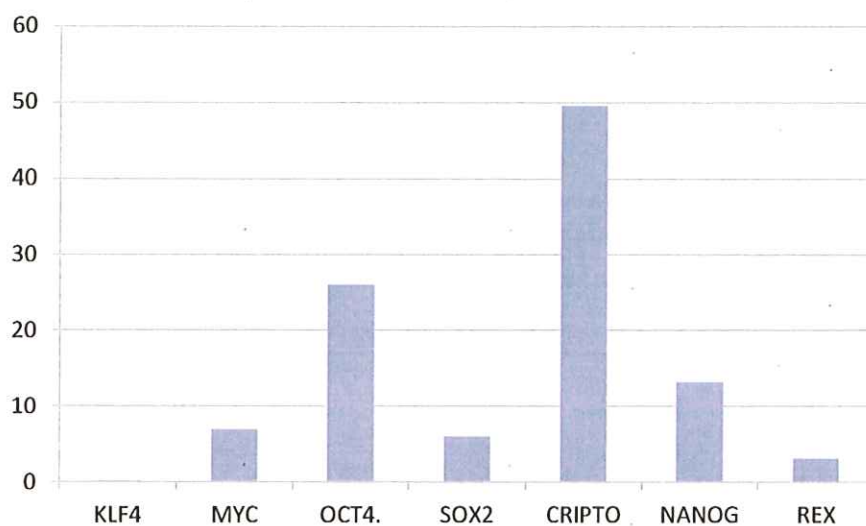


Diferenciación *in vitro* a mesodermo: células positivas para SMA y GATA4.

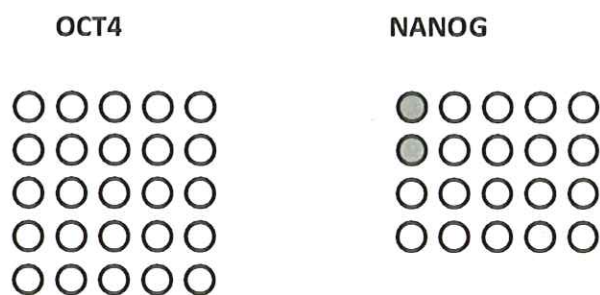


Diferenciación *in vitro* a endodermo: células positivas para FOXA2.

**Anexo 4: Reprogramación del perfil de expresión génica y del perfil de metilación del DNA iPS0924#6**

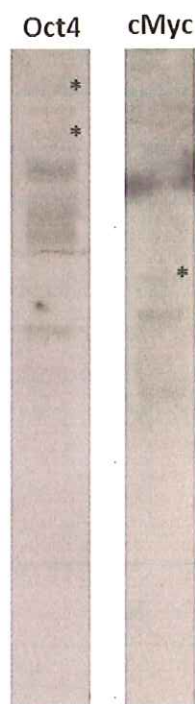


Análisis por q-RT-PCR de los niveles de expresión de los genes endógenos indicados. Se muestra la expresión relativa a GAPDH.

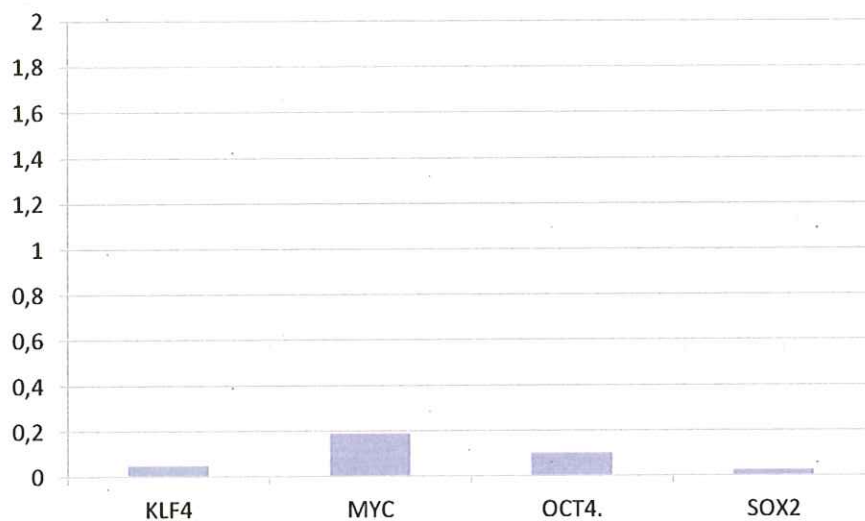


Secuenciación genómica por bisulfito mostrando demetilación de los promotores de OCT4 y NANOG.

**Anexo 5: Integración de los transgenes de reprogramación y silenciamiento de los transgenes de reprogramación iPS0924#6**



Análisis por southern blot mostrando las integraciones genómicas (asterisco) de los retrovirus indicados.



Silenciamiento de los transgenes de reprogramación. Análisis por q-RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra la expresión relativa a GAPDH.