

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-P3 (PDP3 B3001)

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 (especificar)
Yes (specify)

Enfermedad de Parkinson
Parkinson's disease

¿La patología es de origen genético?

Is the pathological condition of genetic origin?

NO
No

SÍ (especificar)
Yes (specify)

Mutación en PINK1 c1488+1G>A+c.1252_1488 (-exon7/del)
PINK1 c1488+1G>A+c.1252_1488 (-exon7/del) mutation

Identificación genética de la línea celular. Método y resultado

Genetic identity of the cell line. Method and result

Información de la amplificación por PCR para ver detectar la mutación tanto en fibroblastos como en neuroblastos. Anexo 1.

Cariotipo/Karyotype

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

Ver ANEXO 2 / See ANNEX2

SECCIÓN 2

Section 2

Datos del Depositante

Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Rosario Sánchez Pernaute	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Paseo Mikeletegi 81, 20009 San Sebastián (Gipuzkoa)
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Fundación Inbiomed - Laboratorio de células madre y reparación neural	Teléfono (phone): 943 30 90 64 Ext. 225 Fax: 943 30 82 22 E-mail: rpernaute@inbiomed.org

SECCIÓN 3

Section 3

Datos de la Línea Celular

Details of Cell Line

Tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica <i>Tissue of origin and anatomic location of the biological sample</i> Biopsia de piel del brazo / Skin biopsy from the arm	
Muestra biológica <i>Biological sample</i> Fresco <input type="checkbox"/> Crioconservado <input checked="" type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>	
Fecha de la donación del muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> 2010	Fecha del uso o descongelación (si congelado) <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 21/07/2012

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:*HFF1 irradiados- irradiated HFF1

Ratio de pase: *Passage ratio* 1:3 semanal/weekly

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 negativo
(Mycoplasma: by PCR) negative

Marcadores: <i>Markers</i>				
	Método (ARN/proteínas) <i>Method</i> <i>(RNA/proteins)</i>	nº pase <i>Passage n.</i>	resultado <i>results</i>	comentarios <i>comments</i>
Oct 4	IF/RNA	P19	+	
Nanog	RNA	P19	+	
Rex 1 (opcional/optional)	RNA	P19	+	
Sox 2	RNA	P19	+	
SSEA3				
SSEA4	IF	P30	+	
TRA-1-60				
TRA-1-81				
Telomerasa/Telomerase (opcional/optional)				
Fosfatasa Alc. /Alkaline phosphatase				
Otros / Others				
Lin28A	RNA	P19	+	
TERT	RNA	P19	+	

Capacidad de diferenciación <i>Differentiation capacity</i>									
	Ectodermo/ Ectoderm			Endodermo/Endoderm			Mesodermo/ Mesoderm		
	marcador <i>marker</i>	pase <i>passage</i>	resultado <i>result</i>	marcador <i>marker</i>	pase <i>passage</i>	resultado <i>result</i>	marcador <i>marker</i>	pase <i>passage</i>	resultado <i>result</i>
In Vitro	TH	P20	+	AFP	P30	+	SMA	P30	+
<i>In vitro</i>	TUJ1	P20	+	Foxa2	P30	+	SAct	P30	+
In vivo/ in vivo	Método: formacion de teratomas en ratones SCID						Resultado: +		
Pasagge: P42	<i>Method: teratoma formation in NOD SCID mice</i>						<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, 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 intratesticular en ratones NOD SCID de clumps de células indiferenciadas y tras, aproximadamente, 9 semanas, análisis de los teratomas producidos mediante técnicas de inmunohistoquímica para ectodermo, mesodermo y endodermo (ver Anexo5).

Clumps of undifferentiated cells were injected into the testis in NOD SCID mice. Around 9 weeks later teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm markers (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: RT-PCR o Q-RT-PCR Ver anexo 7.***Silencing of reprogramming transgenes: RT-PCR o 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 P12***Passage at the time of the recording P***¿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.

Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>(Legal Representative of the Department/Centre)</i> Jose Manuel Franco Fecha/ Date: 26/05/2016	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Rosario Sanchez Pernaute Fecha /Date 26/05/2016
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Jose Manuel Franco	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Paseo Mikeletegi 81 Donostia/San Sebastián 20009	Teléfono /Telephone: 943309064 Fax: E-mail: : jmfranco@inbiomed.org