

**Datos relativos a la muestra biológica:**

Embrión humano criopreservado en día +6 de desarrollo (blastocisto)

Congelación: 14.06.1999

Donación: 7.03.2006

Recepción en el Banco de líneas celulares del CMR[B]: 9.05.2006

Descongelación: 9.05.2006

**Descripción general del proceso previo utilizado:**

El embrión criopreservado donado fue descongelado mediante un protocolo lento con PROH y sacarosa. Tras 24h de cultivo, se eliminó la zona pelúcida (ZP) del embrión mediante pronasa. Se sembró y co-cultivó el blastocisto desprovisto de ZP sobre una monocapa de fibroblastos irradiados y medio de cultivo hES.

**Soporte celular y medio de cultivo utilizados para la derivación:**

Soporte celular: Human foreskin fibroblasts (ATCC, American Type Culture Collection, CCD112Sk).

Medio de cultivo: 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).

**Descripción general del proceso de derivación y mantenimiento de la línea:**

Después de 12 días de cultivo apareció un agregado celular entre crecimiento diferenciado que fue disociado mecánicamente y resembrado en una nueva monocapa de fibroblastos. El periodo entre pases es de 6-7 días. Los pases se realizan de forma mecánica.

El protocolo de congelación de las colonias es un protocolo lento con 90% FBS (suero fetal bovino) y 10% DMSO (dimetil sulfóxido).

**Caracterización de la línea ES[3]**

<b>Código</b>	<b>ES[3]</b>
<b>Origen embrión</b>	<b>FIV Institut Dexeus</b>

**CARACTERÍSTICAS**

<b>Pase nº</b>	<b>40</b>
<b>Feeders</b>	<b>HUMAN FORESKIN FIBROBLASTS</b>
<b>Aislamiento MCI</b>	<b>NO</b>
<b>Cariotipo</b>	<b>46, XY</b>
<b>Fenotipado</b>	
<b>SSEA-1</b>	-
<b>SSEA-3</b>	+
<b>SSEA-4</b>	+
<b>TRA1-60</b>	+
<b>TRA1-81</b>	+
<b>Oct 4</b>	+
<b>Sox 2</b>	+
<b>Nanog</b>	+
<b>Fosfatasa Alcalina</b>	+
<b>Viabilidad congelación/descongelación</b>	<b>SI</b>
<b>Pluripotencialidad</b>	
<i>In vivo</i>	<b>SI</b>
<i>In Vitro:</i>	
ectodermo ( $\beta$ -tubulina III)	+
endodermo ( $\alpha$ -fetoproteína)	+
mesodermo (miosina)	+
<b>Análisis microbiológico</b>	
<b>Aerobios</b>	-
<b>Anaerobios</b>	-
<b>Hongos</b>	-
<b>Micoplasma</b>	-
<b>Tipaje HLA</b>	
	<b>HLA-A*0101</b>
	<b>HLA-B*0801</b>
	<b>HLA-Cw*0701</b>
	<b>HLA-DRB1*0301</b>
	<b>HLA-DQB1*0201</b>
<b>Huella molecular</b>	<b>REALIZADO</b>