

# 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:** [CRTRd]FiPS3819-4F-2

*Name of the line: [CRTRd]FiPS3819-4F-2*

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

*Principal Investigator:*

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

*Cell type origin of the cell line*

Fibroblastos humanos adultos de pacientes con deficiencia de CRTR (transportador de creatina).

*Adult human fibroblasts from patients affected by CRTR (Creatine Transporter) deficiency.*

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

*Has the donor any pathological condition?*

**NO**       **SÍ**  (especificar) deficiencia de CRTR  
*No*                      *Yes*                      *(specify)*                      *CRTR deficiency*

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

*Is the pathological condition of genetic origin?*

**NO**       **SÍ**  (especificar) c.1396 G>A  
*No*                      *Yes*                      *(specify)*                      *c.1396 G>A*

## 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,XY

## SECCIÓN 2

### Section 2

## Datos del Depositante

### Applicant Details

<b>Investigador Principal</b> <i>Principal Investigator:</i> Juan Carlos Izpisua Belmonte, Anna Veiga, Alessandra Giorgetti	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona 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> Fibroblastos procedentes de un paciente afecto de deficiencia de transportador de creatina. <i>Fibroblasts from a patient with creatine transporter deficiency disease.</i>	
<b>Muestra biológica</b> <i>Biological sample</i> Fibroblastos procedentes de un paciente afecto de deficiencia de transportador de Creatina. <i>Fibroblasts from a patient with creatine transporter deficiency disease</i> <b>Fresco</b> <input type="checkbox"/> <b>Crioconservado</b> X <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>	
<b>Fecha de la donación del muestra biológica</b> <i>Date of donation of the biological sample</i> 22.06.2007	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 13-10-2010

**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>		21	+	
<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	8	+	Gata-4	8	+
				FoxA2	8	+	AAS	8	+

**In vivo/ in vivo**

**pase/passage:** p12  
(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*

Sí. Q-RT-PCR de 4 genes de pluripotencia (Oct4, Sox2, Klf4, C-Myc)

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

Se evidenció el silenciamiento de los 4 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 31 pases

The line has been cultured during 31 passages

**Pase en el momento del registro: 31***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):

**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

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.*

<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> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona Center of Regenerative Medicine in Barcelona</p> <p>Fecha / Date: 8 de agosto de 2011</p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b> Signature of the Principal Investigator</p> <p> Fecha / Date: 8 de agosto de 2011</p>
<p><b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> Name and Position of the Person Representing the Centre: Miguel Gómez Clares - Gerente</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b> Postal Address:</p> <p>Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona Dr. Aiguader, 88, 7ª planta 08003. Barcelona</p>	<p><b>Teléfono / Telephone:</b> 93 316 03 00</p> <p><b>Fax:</b> 93 316 03 01</p> <p><b>E-mail:</b> gerencia@cmrb.eu</p>