

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, CCD1112Sk).

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]

Código	ES[3]
Origen embrión	FIV Institut Dexeus

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