

LÍNEA CELULAR VAL-3

Datos relativos a la muestra biológica:

Tipo: Embrión criopreservado en día 2 de desarrollo (4 células).
Congelación: 12/02/1999
Donación: 07/01/2005
Recepción: 01/10/2005
Descongelación: 14/11/2005

Descripción general del proceso:

Los embriones congelados y donados fueron descongelados mediante un protocolo de descongelación lento con gradientes de PROH y sacarosa, posteriormente fueron mantenidos en medio de cultivo secuencial (IVF-CCM hasta día 3 y posteriormente solo CCM, Vitrolife) hasta día 6 de desarrollo. El embrión origen de la línea de célula madre alcanzó el estadio de blastocisto cavitado y después de ser retirada su zona pelúcida con ácido tyrodes, se puso sobre células de *foreskin* irradiadas y medio de cultivo hES.

Soporte celular y medio de cultivo utilizados para la derivación:

Soporte celular: human foreskin fibroblasts (American Type Culture Collection ATCC), Manassas, VA, USA). N° catálogo.- CRL-2429.

Componentes del medio: 80% Knockout DMEM (Gibco/BRL, Pislely, Scotland, UK), n° catálogo: 10829-018. 20% Knockout Serum Replacement (Gibco/BRL), n° catálogo: 10828-028. 1mM L-glutamina (Sigma, St. Louis, MO, USA), n° catálogo: G-7513. 0,1 mM β -mercaptoetanol (Sigma), n° catálogo M-7522. 1% Non-essential amino acids (Gibco/BRL), n° catálogo: 11140-035. 0,5% Penicilina-streptomicina (Sigma), n° catálogo: P-4333.

Referencia:

Valbuena D, Galán A, Sánchez E, Poo ME, Gómez E, Sánchez-Luengo S, Melguizo D, García A, Ruiz V, Moreno R, Pellicer A and Simón C (2006) Derivation, characterization and differentiation of three new human embryonic stem cell lines (VAL-3, -4 and -5) on human feeder and serum-free conditions in Spain. *Reprod BioMed Online* **13**, 875-886.



CARACTERÍSTICAS:

Código: VAL-3
Origen embrión: Instituto Universitario IVI Valencia, Valencia, España
Pase: 72 (en el momento del registro)
Morfología: colonias aplanadas, translúcidas y con bordes definidos, con células homogéneas dispuestas en monocapa y ratio núcleo/citoplasma elevado. Se agrupan en colonias de 3000-5000 células.

Marcadores:

Marcador	Método (ARN/ICQ)	# pase	Resultados	Comentarios
Oct 4	PCR	8,11,15,16,38,62	Positivo	Indiferenciación
Nanog	PCR/ICQ	8,11,15,16,38,62 / 47	Positivo	Indiferenciación
Rex1	PCR	8,11,15,16,38,62	Positivo	Indiferenciación
Sox2	PCR	8,11,15,16,38,62	Positivo	Indiferenciación
SSEA3	-	-		
SSEA4	ICQ	11	Positivo	Indiferenciación
TRA-1-60	ICQ	11	Positivo	Indiferenciación
TRA-1-80	ICQ	11	Positivo	Indiferenciación
Telomerasa	PCR	11, 13 y 14	Positivo	Inmortalidad
Fosfatasa alc.	ICQ	11	Positivo	Indiferenciación
Cariotipo	Bandas G	5, 20 y 46	46, XY	
Thy-1	PCR	8,11,15,16,38,62	Positivo	Indiferenciación
Nfh (ectodermo)	PCR	8,11,15,16,38,62	Negativo	Diferenciación
Ren (mesodermo)	PCR	8,11,15,16,38,62	Negativo	Diferenciación
Amy (endodermo)	PCR	8,11,15,16,38,62	Negativo	Diferenciación

Capacidad de diferenciación:

	Ectodermo			Mesodermo			Endodermo		
	Marcador	Pase	Result	Marcador	Pase	Result	Marcador	Pase	Result
In Vitro	Tubulina β-III	16, 21	+	α-fetoproteína	16, 21	+	Actina muscular	16, 21	+
Método empleado in Vitro: formación de cuerpos embrioides por flotación e ICQ.									
In vivo	Tubulina β-III		+	α-fetoproteína		+	Actina muscular		+
Método empleado in vivo: Inducción de teratomas y análisis por ICQ.									

Tipaje HLA: HLA-A 0201, HLA-B 0702, HLA-B 3801; Bw4, Bw6, HLA-C 0702, HLA-C 1203, HLA-DRB1 1301, HLA-DRB3 0101, HLA-DRB3 0202, HLA-DQA1 0103, HLA-DQB1 0603, HLA-DPB1 0401, HLA-DPB1 1701.

Viabilidad congelación/descongelación: La línea celular se mantiene estable tras 6 pases después de los procedimientos de congelación y descongelación. Marcadores de indiferenciación positivos y formación de teratomas.



Control microbiológico: El soporte celular fue testado para: Mycoplasma, endotoxinas, citomegalovirus, Epstein-Barr, VHB, VHC, herpes humano 6(A) y 6(B), VIH-1, VIH-2, HTLV-I/II, parvovirus y transcriptasa reversa. Los resultados fueron negativos.

La línea fue testada para Mycoplasma y patógenos habituales. De forma rutinaria se realizan controles microbiológicos semanales que aseguran la ausencia de microorganismos en las condiciones de cultivo utilizadas.

Fingerprinting:

