

LÍNEA CELULAR VAL-5

Datos relativos a la muestra biológica:

Tipo: Embrión criopreservado en día 3 de desarrollo (8 células).
Congelación: 14/12/2000
Donación: 11/05/2005
Recepción: 01/10/2005
Descongelación: 06/02/2006

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 embrionario (CCM, Vitrolife), hasta día 6 de desarrollo. El embrión origen de la línea de célula madre alcanzó el estadio de blastocisto expandido y después de ser retirada su zona pelúcida con ácido tyrodes, se puso en co-cultivo con 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, Pisley, 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-5
Origen embrión: Instituto Universitario IVI Valencia, Valencia, España
Pase: 40 (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	5, 6, 8, 18	Positivo	Indiferenciación
Nanog	PCR/ICQ	5, 6, 8, 18 / 28	Positivo	Indiferenciación
Rex1	PCR	5, 6, 8, 18	Positivo	Indiferenciación
Sox2	PCR	5, 6, 8, 18	Positivo	Indiferenciación
SSEA3	-	-		
SSEA4	ICQ	9	Positivo	Indiferenciación
TRA-1-60	ICQ	9	Positivo	Indiferenciación
TRA-1-80	ICQ	9	Positivo	Indiferenciación
Telomerasa	PCR	8	Positivo	Inmortalidad
Fosfatasa alc.	ICQ	18	Positivo	Indiferenciación
Cariotipo	Bandas G	19 y 30	46, XY	
Thy-1	PCR	5, 6, 8, 18	Positivo	Indiferenciación
Nfh (ectodermo)	PCR	5, 6, 8, 18	Negativo	Diferenciación
Ren (mesodermo)	PCR	5, 6, 8, 18	Negativo	Diferenciación
Amy (endodermo)	PCR	5, 6, 8, 18	Negativo	Diferenciación

Capacidad de diferenciación:

	Ectodermo			Mesodermo			Endodermo		
	Marcador	Pase	Result	Marcador	Pase	Result	Marcador	Pase	Result
In Vitro	Tubulina β -III	7	+	α -fetoproteína	7	+	Actina muscular	7	+
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 0101, HLA-A 2402, HLA-B 0801, HLA-B 4403; Bw4, Bw6, HLA-C 0202, HLA-C 0701, HLA-DRB1 0301, HLA-DRB1 0402, HLA-DRB3 0101, HLA-DRB4 0103, HLA-DQA1 0501, HLA-DQA1 030101, HLA-DQB1 0201, HLA-DQB1 0302, HLA-DPB1 0201, HLA-DPB1 0401.

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:

