

BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES (TRONCALES)
National Bank of Stem Cell Lines
IMPRESO DE SOLICITUD DE REGISTRO Y DEPÓSITO DE UNA LÍNEA iPS HUMANA
Application Form to Register and Deposit of an human iPS cell line

FECHA: 10/3/2017

DOCUMENTOS QUE DEBEN ACOMPAÑAR LA SOLICITUD:

Attached documents:

- Copia de la autorización del proyecto en el cual se genera la línea celular, junto con informe favorable del Comité Ético del centro de procedencia.**
A copy of the project authorization in which the cell line is obtained along with a favourable report of the Clinical Research Ethics Committee
- Copia de cualquier publicación científica relacionada con la línea iPS generada.**
A copy of any relevant published scientific papers related to the iPS cell line generated
- C. V. del investigador principal (una página; formato libre).**
A one page CV for the Principal Investigator

SECCIÓN 1-INFORMACIÓN DE LA MUESTRA ORIGINAL Y DE LA iPS GENERADA.

Section 1-Information of the original cell line and the generated iPS

Nombre de la línea iPS <i>Name of the iPS line:</i>	DUPSW FiPS301 R4F-1
Muestra original donada. Detallar tipo de célula, tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica de la que se obtiene la línea original. Si son células comerciales, detallar nombre, referencia y distribuidor comercial <i>Original sample donated.</i> <i>Detail cell type, tissue of origin and anatomic location of the biological sample from which the original line is obtained.</i> <i>If cells are commercial, detail name, reference and trade distributor.</i>	Fibroblastos de dermis procedentes de biopsia de piel. <i>Dermal fibroblasts from skin biopsy.</i>
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino/ female 15 años/ 15 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Williams-Beuren's syndrome <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) 7q.11.23 deletion <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco <input checked="" type="checkbox"/> Crioconservado <input type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> 11.2.2013	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 17.3.2016
Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	Medio de cultivo/ Culture media: IMDM + 10%FBS + 0,5% Penicilin-Streptomycin (Gibco, InVitrogen corporation). 37°C- 5%CO2
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the original cells.</i>	Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5) <i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 5)</i>
¿Hay disponibilidad de viales congelados de las células de origen? ¿En qué pase? <i>Is there availability of frozen vials of original cells? At what passage?</i>	Si, 3 viales en p1; 10 viales en p2 Yes, 3 vials at p1; 10 vials at p2
Método utilizado en la generación de la línea iPSc. (Integrativa/ No-integrativa) Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados. <i>Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	Generación de las células pluripotenciales inducidas (iPSC) a partir de los fibroblastos de un paciente que presenta la delección 7q.11.23, mediante la estrategia retroviral con expresión ectópica de 4 factores de transcripción (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc). Mediante el uso de un plásmido retroviral (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) y un constructo tricistrónico (pMXsKLF4 MYCGFP) <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from fibroblasts of a patient carrying 7q.11.23 deletion, by the retroviral strategy with ectopic expression of 4 transcription factors (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc), using the retroviral plasmid (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) and a tricistronic constructor (pMXsKLF4 MYCGFP).</i>
Condiciones de cultivo de la línea de iPSc generada. (si se describen en publicación, indicar referencia) <i>iPS Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>	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), 10 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). Support: Matrigel (Corning BV) Culture medium: mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies)

<p>Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo (forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma; otros) <i>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)</i></p>	<p>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.</p> <p><i>Large and flat polygonal colonies, with uniformly sized cells of 1-3 mm diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i></p>
<p>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p>	<p>La congelación de los clumps de colonias se ha realizado en FBS(90%) + DMSO(10%), mediante congelador programable (-0.5°C/min.) o mediante contenedor de isopropanol a -80°C (-1°C/min.). Los viales se han descongelado a 37°C mediante descongelación rápida.</p> <p><i>The clumps of colonies were cryopreserved in FBS(90%)+ DMSO (10%), by programmable freezer (-0.5°C/min.) or by isopropanol container at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.</i></p>
<p>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15) <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>p6-9</p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Comentarios/ Comments:</p>	<p>¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i> Sí/ Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> Resultado / Result</p>

SECCIÓN 2 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE LA LÍNEA iPS.
Adjuntar resultados (imágenes o gráficos) como anexo

Section 2 iPS Cell Line characterization results. Attach results (images and graphics) as an annex

<p>Test de pluripotencia <i>Pluripotency test</i></p> <p>Anexo 1 <i>Annex 1</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Método <i>Method</i></th> <th>Nº pase <i>Passage n.</i></th> <th>Resultado <i>Results</i></th> <th>Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Oct 4 inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nanog inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sox 2 inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA3 inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA4 inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-60 inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-81 inmunocitoq.</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fosfatasa. Alk actividad</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Oct 4 inmunocitoq.	p8	+		Nanog inmunocitoq.	p8	+		Sox 2 inmunocitoq.	p8	+		SSEA3 inmunocitoq.	p8	+		SSEA4 inmunocitoq.	p8	+		TRA-1-60 inmunocitoq.	p8	+		TRA-1-81 inmunocitoq.	p8	+		Fosfatasa. Alk actividad	p8	+	
Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																		
Oct 4 inmunocitoq.	p8	+																																			
Nanog inmunocitoq.	p8	+																																			
Sox 2 inmunocitoq.	p8	+																																			
SSEA3 inmunocitoq.	p8	+																																			
SSEA4 inmunocitoq.	p8	+																																			
TRA-1-60 inmunocitoq.	p8	+																																			
TRA-1-81 inmunocitoq.	p8	+																																			
Fosfatasa. Alk actividad	p8	+																																			
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Método <i>Method</i></th> <th>Marcador <i>Marker</i></th> <th>Nº pase <i>Passage n</i></th> <th>Resultado <i>Results</i></th> <th>Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td>inmunocitoq. Tuj1/GFAP</td> <td>11</td> <td>+ / +</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td>inmunocitoq. ASMA/ASA</td> <td>11</td> <td>+ / +</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Endoderm <i>Endoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq. Tuj1/GFAP	11	+ / +		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA/ASA	11	+ / +		Endoderm <i>Endoderm</i>																				
Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																	
Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq. Tuj1/GFAP	11	+ / +																																		
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA/ASA	11	+ / +																																		
Endoderm <i>Endoderm</i>																																					
<p>Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i> <i>(espontánea/inducida)</i></p> <p><i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i></p>	<p>Mesodermo: cultivo de cuerpos embrioides (EBs) en medio de cultivo suplementado con ácido ascórbico. Endodermo: cultivo de cuerpos embrioides. Ectodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio N2/B27 sobre células PA6 (ver Anexo 2).</p> <p><i>Mesoderm: Embryoid bodies (EBs) cultured in culture medium supplemented with ascorbic acid. Endoderm: EBs culture. Ectoderm: EBs culture in N2/B27on PA6 cells (see Annex 2).</i></p>																																				

Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="432 152 592 264"></th> <th data-bbox="592 152 735 264"> Método <i>Method</i> </th> <th data-bbox="735 152 879 264"> Marcador <i>Marker</i> </th> <th data-bbox="879 152 1023 264"> Nº pase <i>Passage n</i> </th> <th data-bbox="1023 152 1166 264"> Resultado <i>Results</i> </th> <th data-bbox="1166 152 1436 264"> Comentarios <i>Comments</i> </th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="432 264 592 376"> Ectodermo <i>Ectoderm</i> </td> <td data-bbox="592 264 735 376"> inmunohist. </td> <td data-bbox="735 264 879 376"> TUJ1/GFAP </td> <td data-bbox="879 264 1023 376"> 11 </td> <td data-bbox="1023 264 1166 376"> +/+ </td> <td data-bbox="1166 264 1436 376"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 376 592 488"> Mesodermo <i>Mesoderm</i> </td> <td data-bbox="592 376 735 488"> inmunohist. </td> <td data-bbox="735 376 879 488"> ASMA/ASA </td> <td data-bbox="879 376 1023 488"> 11 </td> <td data-bbox="1023 376 1166 488"> +/+ </td> <td data-bbox="1166 376 1436 488"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 488 592 600"> Endodermo <i>Endoderm</i> </td> <td data-bbox="592 488 735 600"> inmunohist. </td> <td data-bbox="735 488 879 600"> AFP/FOXA2 </td> <td data-bbox="879 488 1023 600"> 11 </td> <td data-bbox="1023 488 1166 600"> +/+ </td> <td data-bbox="1166 488 1436 600"></td> </tr> </tbody> </table>		Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	TUJ1/GFAP	11	+/+		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	ASMA/ASA	11	+/+		Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP/FOXA2	11	+/+	
	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																				
Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	TUJ1/GFAP	11	+/+																					
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	ASMA/ASA	11	+/+																					
Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP/FOXA2	11	+/+																					
Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	<p>Inyección intratesticular en ratones SCID de 4•10 mill de células indiferenciadas y tras 8 semanas, análisis de los teratomas producidos mediante técnicas de inmunohistoquímica para ectodermo, mesodermo y endodermo (Anexo 3).</p> <p><i>4·10 mill of undifferentiated cells were injected into the testis of SCID mice. After 8 weeks, teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm (Annex 3).</i></p>																								
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	46 XX p7, p11 (Anexo4) (Annex 4)																								
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de la línea celular <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the cell line</i>	<p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 5)</i></p>																								
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	<p>La PCR evidenció la integración de los 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc. (Anexo 6)</p> <p><i>Integration of the 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc was shown by PCR (Annex 6)</i></p>																								

<p>Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>Se evidenció el silenciamiento de los 4 genes de reprogramación: Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc mediante qRT-PCR (Anexo 6)</p> <p><i>Silencing of reprogramming genes Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc has been shown by qRT-PCR (Annex 6)</i></p>
<p>Confirmación del diagnóstico genotípico en las iPSC generadas a partir de muestras con mutación genética <i>Confirmation of genotypic diagnosis of the cell line generated from samples with genetic mutation</i></p>	<p>Se presenta el detalle de la deleción intersticial identificada en la banda 7q11.23 que coincide con la microdeleción que presenta el paciente y que se ha descrito en la literatura como causante del Síndrome de Williams-Beuren (Anexo 7).</p> <p><i>Deletion in the band 7q11.23 has shown. This deletion is identical to the one present in the patient and has been described in literature as the cause of William-Beuren Syndrome (Annex 7).</i></p>
<p>Test de micoplasma Mycoplasma Test</p>	<p>Negativo por PCR (Anexo 8)</p> <p><i>Negative by PCR (Annex 8)</i></p>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

<p>Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Veiga Lluch</p>	<p>Dirección Postal: <i>Postal address:</i> CMRB Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona</p>
<p>Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB)</p>	<p>Teléfono (phone): 933160360</p> <p>Fax: 933160301</p> <p>E-mail: blc@cmrb.eu</p>

<p>Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Ivón Cuscó Martí</p>	<p>Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Universitat Pompeu Fabra Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona</p>
<p>Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Universitat Pompeu Fabra</p>	<p>Teléfono (phone): 933160855</p> <p>Fax: 933160901</p> <p>E-mail: ivon.cusco@upf.edu</p>

SECCIÓN 4 INFORMACIÓN ADICIONAL (OPCIONAL)

Section 4 Additional information (optional)

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)

