

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: 12 de diciembre de
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>	RP2-FiPS4F1
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. Detail cell type, tissue of origin and anatomic location of the biological sample from which the original line is obtained. If cells are commercial, detail name, reference and trade distributor.</i>	Fibroblastos humanos de piel Human dermal fibroblasts
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Mujer 42 años Woman Age 42
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Retinosis pigmentaria/ Retinitis pigmentosa No Yes (specify)
¿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) PRPF8 c.6974_6994del21bp (p.V2325fsX2329)/WT , heterocigosis/ heterozygosis No Yes (specify)

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> 19 November 2013, November 19, 2013	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 23 de diciembre de 2015 December 23, 2015
Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	DMEM (Invitrogen 21969-035), 2mM Glutamax (Invitrogen #35050-038), 1x Penstrep, 20% FBS (Gibco #10270-106).
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>	Si (ver Anexo) Yes (see Annex)
¿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 , pase 8 Yes, passage 8
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>	Cytotune iPSc reprogramming kit (metodo no integrativo/ non-integrative method) SeV virus: Klf4, Oct4, Sox2, c-Myc
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>	Cultivo sobre fibroblastos humanos del prepucio. Medio de cultivo KO DMEM, KSR 20%, Glutamax 2mM, aminoácidos no esenciales 0.1mM, β-mercaptoetanol 0.23mM, basic FGF 10ng/mL, and peniciline/streptomycine.Pase manual cada 6-8 días. Culture on human foreskin feeders. Culture medium: KO DMEM, KSR 20%, Glutamax 2mM, non essential aminoacids 0.1mM, β-mercaptoethanol 0.23mM, basic FGF 10ng/mL and peniciline/streptomycine. Cells were mechanically passaged every 6-8 days.
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</i>	Colonias poligonales 1-2mm en diámetro. Elevada relación núcleo/ citoplasma. Polygonal colonies 1-2mm diameter large. High nucleus/cytoplasm ratio.

<p>cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</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>Solution A: 50% hESC medium, 50% KSR; Solution B: 80% hESC medium, 20% DMSO (Sol A:Sol B =1:1)</p> <p>Criopreservados en contenedor de isopropanol a -80°C y posteriormente en nitrógeno líquido. Descongelación rápida a 37°C. Criopreserved in isopropano container at -80°C, over night, and stored in liquid nitrogen the next day. Rapid thawing at 37°C.</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>Pase 13 Passage 13</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>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="587 412 683 465">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="890 412 1023 465">Nº pase <i>Passage n.</i></th> <th data-bbox="1066 412 1193 465">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1225 412 1390 465">Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="587 533 683 564">Oct 4</td> <td data-bbox="587 533 1023 564">Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;</td> <td data-bbox="1066 533 1193 564">RT-PCR</td> <td data-bbox="1225 533 1390 564">p10 +</td> </tr> <tr> <td data-bbox="587 595 683 627">Nanog</td> <td data-bbox="587 595 1023 627">Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;</td> <td data-bbox="1066 595 1193 627">RT-PCR</td> <td data-bbox="1225 595 1390 627">p10 +</td> </tr> <tr> <td data-bbox="587 658 683 689">Sox 2</td> <td data-bbox="587 658 1023 689">Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;</td> <td data-bbox="1066 658 1193 689">RT-PCR</td> <td data-bbox="1225 658 1390 689">p10 +</td> </tr> <tr> <td data-bbox="587 721 683 752">SSEA3</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="587 784 683 815">SSEA4</td> <td data-bbox="587 784 1023 815">Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;</td> <td data-bbox="1066 784 1193 815">RT-PCR</td> <td data-bbox="1225 784 1390 815">p10 +</td> </tr> <tr> <td data-bbox="587 846 683 878">TRA-1-60</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="587 909 683 940">TRA-1-81</td> <td colspan="3"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="587 972 683 1003">Fosfatasa. Alk</td> <td data-bbox="587 972 1023 1003">Si/ Yes</td> <td colspan="2" data-bbox="1066 972 1390 1003">p10 +</td> </tr> </tbody> </table>	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Oct 4	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;	RT-PCR	p10 +	Nanog	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;	RT-PCR	p10 +	Sox 2	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;	RT-PCR	p10 +	SSEA3				SSEA4	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;	RT-PCR	p10 +	TRA-1-60				TRA-1-81				Fosfatasa. Alk	Si/ Yes	p10 +	
Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																		
Oct 4	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;	RT-PCR	p10 +																																		
Nanog	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;	RT-PCR	p10 +																																		
Sox 2	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;	RT-PCR	p10 +																																		
SSEA3																																					
SSEA4	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;	RT-PCR	p10 +																																		
TRA-1-60																																					
TRA-1-81																																					
Fosfatasa. Alk	Si/ Yes	p10 +																																			
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="587 1115 683 1169">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="778 1115 874 1169">Marcador <i>Marker</i></th> <th data-bbox="922 1115 1023 1169">Nº pase <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1082 1115 1209 1169">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1241 1115 1433 1169">Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="5" data-bbox="435 1144 1442 1198">Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> </tr> <tr> <td colspan="5" data-bbox="435 1229 1442 1283">Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> </tr> <tr> <td colspan="5" data-bbox="435 1314 1442 1368">Endoderm <i>Endoderm</i></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>					Mesodermo <i>Mesoderm</i>					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>																																					
Mesodermo <i>Mesoderm</i>																																					
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>Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Método</th> <th>Marcador</th> <th>Nº pase</th> <th>Resultado</th> </tr> <tr> <th>Comentarios</th> <th><i>Method</i></th> <th><i>Marker</i></th> <th><i>Passage n</i></th> <th><i>Results</i></th> </tr> <tr> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th><i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ectodermo</td> <td colspan="4">Teratoma, análisis histológico: Neuroepitelio, retina +(Anexo)</td> </tr> <tr> <td><i>Ectoderm</i></td> <td colspan="4"></td> </tr> <tr> <td>Mesodermo</td> <td colspan="4">Teratoma, análisis histológico: adipocitos, músculo, cartílago+(Anexo),</td> </tr> <tr> <td><i>Mesoderm</i></td> <td colspan="4"></td> </tr> <tr> <td>Endodermo</td> <td colspan="4">Teratoma, análisis histológico (endodermo de intestino) + (Anexo)</td> </tr> <tr> <td><i>Endoderm</i></td> <td colspan="4"></td> </tr> </tbody> </table>		Método	Marcador	Nº pase	Resultado	Comentarios	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n</i>	<i>Results</i>					<i>Comments</i>	Ectodermo	Teratoma, análisis histológico: Neuroepitelio, retina +(Anexo)				<i>Ectoderm</i>					Mesodermo	Teratoma, análisis histológico: adipocitos, músculo, cartílago+(Anexo),				<i>Mesoderm</i>					Endodermo	Teratoma, análisis histológico (endodermo de intestino) + (Anexo)				<i>Endoderm</i>				
	Método	Marcador	Nº pase	Resultado																																										
Comentarios	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n</i>	<i>Results</i>																																										
				<i>Comments</i>																																										
Ectodermo	Teratoma, análisis histológico: Neuroepitelio, retina +(Anexo)																																													
<i>Ectoderm</i>																																														
Mesodermo	Teratoma, análisis histológico: adipocitos, músculo, cartílago+(Anexo),																																													
<i>Mesoderm</i>																																														
Endodermo	Teratoma, análisis histológico (endodermo de intestino) + (Anexo)																																													
<i>Endoderm</i>																																														
<p>Descripción de las características de diferenciación in vivo <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i></p>	<p>Células iPS resuspendidas en medio de cultivo se inyectan subcutáneamente en la espalda de ratón SCID. Tras 8 semanas se forman teratomas de 1 cm de diámetro, se analizan los cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina.</p> <p>iPS cells resuspended in culture medium are injected subcutaneously in SCID mice. After 8 weeks teratomas are formed of 1cm of diameter, excised, fixed and stained by HE.</p>																																													
<p>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i></p>	<p>Cariotipo normal femenino pase 8 (ver Anexo) Normal female karyotype passage 8 (see Annex)</p>																																													
<p>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>	<p>Sí (ver Anexo) Yes (see Annex)</p>																																													
<p>Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>Método no integrativo Non-integrative method</p>																																													

Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	RT-PCR (ver Anexo) RT-PCR (see Annex)
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>	La presencia de la mutación en la línea de iPSC generada confirmada por secuenciación Sanger (Anexo) The presence of mutation was confirmed by Sanger sequencing (See Annex)
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo Negative

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Slaven Erceg Vukicevic	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> c/Eduardo Primo Yúfera 3, Valencia 46012
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe	Teléfono (phone): +963289680 Fax: E-mail: serceg@cipf.es

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)

SECCIÓN 5 DECLARACIÓN

Confirmo 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.

Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>Legal Representative of the Department/Centre</i>  Fecha/Date: 13 de diciembre, 2017/ December 13, 2017	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Slaven Erceg Vukicevic  Fecha /Date 12 de diciembre de 2017/ December 12, 2017
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Dña. Deborah J. Burks. Directora	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe C/ D' Eduardo Primo Yúfera, 3 46012 Valencia	Teléfono /Telephone: ++34 963289680 Fax: E-mail: serceg@cipf.es