

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: 31-08-2017

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>	MA5622-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.</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 primarios humanos obtenidos a partir de una biopsia de piel. Human primary fibroblasts obtained from a skin biopsy.
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Enfermedad de McArdle <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i> <i>McArdle disease</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) Es causada por una mutación en homocigosis en el gen PYGM: c.148C>T; p.Arg50Ter (ver ANEXO I). The disease is caused by an homozygous mutation in the gene PYGM: c.148C>T; p.Arg50Ter (see ANNEX I).

	No	Yes (specify)
Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco <input checked="" type="checkbox"/> <i>Fresh</i>	Crioconservado <input type="checkbox"/> <i>Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> 09/2016	Fecha del uso o descongelación (<i>si congelado</i>) <i>Date used or thawed (if frozen)</i> La muestra se expandió y una vez conseguidos stocks se fueron almacenando viales en nitrógeno líquido. The sample was thawed and expanded for the generation of a stock. After, several cryovials with frozen cells were stored in liquid nitrogen.	
Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	Los fibroblastos se han mantenido en DMEM high glucose con FBS hyclone 10%, Penicilina-Streptomocina 1X y glutamax 1X. Fibroblasts have been maintained in DMEM high glucose with FBS hyclone 10%, Penicillin-Streptomycin 1X and glutamax 1X	
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>	Se ha llevado a cabo análisis de la huella genética por análisis de microsatélites/STR (ver ANEXO 1). To confirm the cell identity a DNA fingerprinting assay has been carried out (See ANNEX 1)	
¿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>	Sí, (pase 13) Yes, (passage 13)	
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>	Metodología no integrativa que implica el uso de virus Sendai (CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit). Se han utilizado los factores de reprogramación Oct3/4, Sox2, Klf4 y cMyc. Non integrative methodology that involves the use of Sendai virus (CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit, Invitrogen). Oct3/4, Sox2, Klf4 y cMyc have been used as reprogramming factors	
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>	Se han seguido las condiciones de cultivo descritas por Raya A et al. Nature protocols 2010; 5(4): 647-60. Culture conditions are described in detail by Raya A et al. Nature protocols 2010; 5(4): 647-60.	
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</i>	Las iPSC generadas presentan características morfológicas típicas de células ES (elevada relación núcleo/citoplasma) (Ver ANEXO 1). The generated iPSCs present a typical ES cell colony morphology (high ratio nucleus/cytoplasm) (see ANNEX 1)	

<p><i>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>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p>	<p>Se ha seguido el protocolo descrito en el "CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit"</p> <p>For cryopreserving the iPSC cells the protocol described in the manual of the "CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit" has been followed.</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 5 en el momento de banqueo</p> <p>Passage at the time of banking 5)</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="435 405 582 472"></th> <th data-bbox="582 405 879 472">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="879 405 1054 472">Nº pase <i>Passage n.</i></th> <th data-bbox="1054 405 1230 472">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1230 405 1442 472">Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="435 528 582 562">Oct 4</td> <td data-bbox="582 528 879 562">RNA/proteína</td> <td data-bbox="879 528 1054 562">20</td> <td data-bbox="1054 528 1230 562">+</td> <td data-bbox="1230 528 1442 562"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 595 582 629">Nanog</td> <td data-bbox="582 595 879 629">RNA/proteína</td> <td data-bbox="879 595 1054 629">20</td> <td data-bbox="1054 595 1230 629">+</td> <td data-bbox="1230 595 1442 629"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 663 582 696">Sox 2</td> <td data-bbox="582 663 879 696">RNA/proteína</td> <td data-bbox="879 663 1054 696">20</td> <td data-bbox="1054 663 1230 696">+</td> <td data-bbox="1230 663 1442 696"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 730 582 763">SSEA3</td> <td data-bbox="582 730 879 763">proteína</td> <td data-bbox="879 730 1054 763">20</td> <td data-bbox="1054 730 1230 763">+</td> <td data-bbox="1230 730 1442 763"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 797 582 831">SSEA4</td> <td data-bbox="582 797 879 831">proteína</td> <td data-bbox="879 797 1054 831">20</td> <td data-bbox="1054 797 1230 831">+</td> <td data-bbox="1230 797 1442 831"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 864 582 898">TRA-1-60</td> <td data-bbox="582 864 879 898">proteína</td> <td data-bbox="879 864 1054 898">20</td> <td data-bbox="1054 864 1230 898">+</td> <td data-bbox="1230 864 1442 898"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 931 582 965">TRA-1-81</td> <td data-bbox="582 931 879 965">proteína</td> <td data-bbox="879 931 1054 965">20</td> <td data-bbox="1054 931 1230 965">+</td> <td data-bbox="1230 931 1442 965"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 999 582 1032">Fosfatasa. Alk</td> <td data-bbox="582 999 879 1032">proteína</td> <td data-bbox="879 999 1054 1032">20</td> <td data-bbox="1054 999 1230 1032">+</td> <td data-bbox="1230 999 1442 1032"></td> </tr> </tbody> </table>		Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Oct 4	RNA/proteína	20	+		Nanog	RNA/proteína	20	+		Sox 2	RNA/proteína	20	+		SSEA3	proteína	20	+		SSEA4	proteína	20	+		TRA-1-60	proteína	20	+		TRA-1-81	proteína	20	+		Fosfatasa. Alk	proteína	20	+	
	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																										
Oct 4	RNA/proteína	20	+																																											
Nanog	RNA/proteína	20	+																																											
Sox 2	RNA/proteína	20	+																																											
SSEA3	proteína	20	+																																											
SSEA4	proteína	20	+																																											
TRA-1-60	proteína	20	+																																											
TRA-1-81	proteína	20	+																																											
Fosfatasa. Alk	proteína	20	+																																											
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="435 1077 582 1144"></th> <th data-bbox="582 1077 751 1144">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="751 1077 879 1144">Marcador <i>Marker</i></th> <th data-bbox="879 1077 1054 1144">Nº pase <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1054 1077 1230 1144">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1230 1077 1442 1144">Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="435 1245 582 1301">Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="582 1245 751 1301">Proteína</td> <td data-bbox="751 1245 879 1301">TUJ1</td> <td data-bbox="879 1245 1054 1301">20</td> <td data-bbox="1054 1245 1230 1301">+</td> <td data-bbox="1230 1245 1442 1301"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 1357 582 1413">Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="582 1357 751 1413">Proteína</td> <td data-bbox="751 1357 879 1413">SMA</td> <td data-bbox="879 1357 1054 1413">20</td> <td data-bbox="1054 1357 1230 1413">+</td> <td data-bbox="1230 1357 1442 1413"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 1469 582 1525">Endoderm <i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="582 1469 751 1525">Proteína</td> <td data-bbox="751 1469 879 1525">AFP</td> <td data-bbox="879 1469 1054 1525">20</td> <td data-bbox="1054 1469 1230 1525">+</td> <td data-bbox="1230 1469 1442 1525"></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>	Proteína	TUJ1	20	+		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Proteína	SMA	20	+		Endoderm <i>Endoderm</i>	Proteína	AFP	20	+																						
	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>	Proteína	TUJ1	20	+																																										
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Proteína	SMA	20	+																																										
Endoderm <i>Endoderm</i>	Proteína	AFP	20	+																																										
<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>Espontánea (a las tres capas embrionarias, ver ANEXO 1)</p> <p>Spontaneous differentiation into the three germ layers, see ANNEX 1)</p>																																													

Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="442 152 608 286">Comentarios</th> <th data-bbox="608 152 751 286">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="751 152 895 286">Marcador <i>Marker</i></th> <th data-bbox="895 152 1038 286">Nº pase <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1038 152 1230 286">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1230 152 1444 286"><i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="442 286 608 421">Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="442 421 608 510">Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="442 510 608 600">Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	<i>Comments</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>						Mesodermo <i>Mesoderm</i>						Endodermo <i>Endoderm</i>					
Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	<i>Comments</i>																				
Ectodermo <i>Ectoderm</i>																									
Mesodermo <i>Mesoderm</i>																									
Endodermo <i>Endoderm</i>																									
Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	<p>No se ha llevado a cabo por considerarse un ensayo que ya no es necesario para demostrar la pluripotencialidad de las células.</p> <p>This assay has not been carried out. At this moment it is considered that this assay is not essential to demonstrate the pluripotency of the cells.</p>																								
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	<p>Pase 20, cariotipo 46, XX Ver ANEXO 1</p> <p>Passage 20, karyotype 46, XX See ANNEX 1</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>Se ha llevado a cabo análisis de la huella genética por análisis de microsatélites/STR (ver ANEXO 1).</p> <p>To confirm the cell identity a DNA fingerprinting assay has been carried out (See ANNEX 1)</p>																								
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	<p>Los genes no se integran porque se ha utilizado una metodología NO integrativa (virus Sendai)</p> <p>Genes do not integrate. A non-integrative methodology that involves the use of Sendai virus has been used</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>Mostramos por RT-PCR la eliminación de los vectores y factores de reprogramación exógenos (ver ANEXO 1)</p> <p>We confirmed the clearance of the vectors and the exogenous reprogramming factor genes by RT-PCR (see ANNEX 1)</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 ha confirmado la presencia de las mutaciones en la línea de iPSC generada por secuenciación Sanger (ver ANEXO 1)</p> <p>The presence of the mutations in the iPSC line was evaluated and confirmed by Sanger sequencing (see ANNEX 1)</p>
<p>Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i></p>	<p>Las células son micoplasma negativas por PCR.</p> <p>iPSC cells have been confirmed mycoplasma-free by PCR</p>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

<p>Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> MARÍA ESTHER GALLARDO PÉREZ</p>	<p>Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Avda. Arzobispo Morcillo nº 4</p>
<p>Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols Facultad de Medicina, UAM-CSIC.</p>	<p>Teléfono (phone): 91-497-54-52</p> <p>Fax: 91 585-44-01</p> <p>E-mail: egallardo@iib.uam.es</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)

SECCIÓN 5 DECLARACIÓN

Confirmando 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.

<p>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></p> <p>Dr. José Manuel González Sancho</p>  <p>Fecha/ Date: 08-2017</p>	<p>Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p>MARÍA ESTHER GALLARDO PÉREZ</p>  <p>Fecha /Date 08-2017</p>
<p>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> José Manuel González Sancho (Vicerrector de la UAM)</p>	
<p>Dirección Postal: <i>Postal Address:</i></p> <p>C/. Einstein 3, 28049-Madrid</p>	<p>Teléfono /Telephone: 91-497-40-08</p> <p>Fax: 91-497-67-55</p> <p>E-mail: vicerrectorado.investigacion@uam.es</p>