

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: 11-09-2017

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>	OAS545-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>	Hombre desconocida Male unknown
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Atrofia óptica dominante 'plus' No Yes (specify) Dominant Optic Atrophy, DOA 'plus'
¿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 heterocigosis en el gen OPA1: c.1635C>A; p.Ser545Arg (ver ANEXO I). The disease is caused by a heterozygous mutation, c.1635C>A; p.Ser545Arg, in the gene OPA1 (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> 06/2016	Fecha del uso o descongelación (<i>sí 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 9) Yes, (passage 9)	
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.	

<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>Las iPSC generadas presentan características morfológicas típicas de células ES (elevada relación núcleo/citoplasma) (Ver ANEXO 1).</p> <p>The generated iPSCs present a typical ES cell colony morphology (high ratio nucleus/cytoplasm) (see ANNEX 1)</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 11 en el momento de banqueo</p> <p>Passage at the time of banking, 11)</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="435 405 587 472"></th> <th data-bbox="587 405 874 472">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="874 405 1066 472">Nº pase <i>Passage n.</i></th> <th data-bbox="1066 405 1225 472">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1225 405 1442 472">Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="435 528 587 573">Oct 4</td> <td data-bbox="587 528 874 573">RNA/Protein</td> <td data-bbox="874 528 1066 573">20</td> <td data-bbox="1066 528 1225 573">+</td> <td data-bbox="1225 528 1442 573"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 595 587 640">Nanog</td> <td data-bbox="587 595 874 640">RNA/Protein</td> <td data-bbox="874 595 1066 640">20</td> <td data-bbox="1066 595 1225 640">+</td> <td data-bbox="1225 595 1442 640"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 663 587 707">Sox 2</td> <td data-bbox="587 663 874 707">RNA/Protein</td> <td data-bbox="874 663 1066 707">20</td> <td data-bbox="1066 663 1225 707">+</td> <td data-bbox="1225 663 1442 707"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 730 587 775">SSEA3</td> <td data-bbox="587 730 874 775">Protein</td> <td data-bbox="874 730 1066 775">20</td> <td data-bbox="1066 730 1225 775">+</td> <td data-bbox="1225 730 1442 775"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 797 587 842">SSEA4</td> <td data-bbox="587 797 874 842">Protein</td> <td data-bbox="874 797 1066 842">20</td> <td data-bbox="1066 797 1225 842">+</td> <td data-bbox="1225 797 1442 842"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 864 587 909">TRA-1-60</td> <td data-bbox="587 864 874 909">Protein</td> <td data-bbox="874 864 1066 909">20</td> <td data-bbox="1066 864 1225 909">+</td> <td data-bbox="1225 864 1442 909"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 931 587 976">TRA-1-81</td> <td data-bbox="587 931 874 976">Protein</td> <td data-bbox="874 931 1066 976">20</td> <td data-bbox="1066 931 1225 976">+</td> <td data-bbox="1225 931 1442 976"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 999 587 1043">Fosfatasa. Alk</td> <td data-bbox="587 999 874 1043">Protein</td> <td data-bbox="874 999 1066 1043">20</td> <td data-bbox="1066 999 1225 1043">+</td> <td data-bbox="1225 999 1442 1043"></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/Protein	20	+		Nanog	RNA/Protein	20	+		Sox 2	RNA/Protein	20	+		SSEA3	Protein	20	+		SSEA4	Protein	20	+		TRA-1-60	Protein	20	+		TRA-1-81	Protein	20	+		Fosfatasa. Alk	Protein	20	+	
	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																										
Oct 4	RNA/Protein	20	+																																											
Nanog	RNA/Protein	20	+																																											
Sox 2	RNA/Protein	20	+																																											
SSEA3	Protein	20	+																																											
SSEA4	Protein	20	+																																											
TRA-1-60	Protein	20	+																																											
TRA-1-81	Protein	20	+																																											
Fosfatasa. Alk	Protein	20	+																																											
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="435 1077 587 1167">Comentarios</th> <th data-bbox="587 1077 762 1167">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="762 1077 922 1167">Marcador <i>Marker</i></th> <th data-bbox="922 1077 1082 1167">Nº pase <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1082 1077 1241 1167">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1241 1077 1442 1167">Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="435 1234 587 1301">Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="587 1234 762 1301">Protein</td> <td data-bbox="762 1234 922 1301">TUJ1</td> <td data-bbox="922 1234 1082 1301">20</td> <td data-bbox="1082 1234 1241 1301"></td> <td data-bbox="1241 1234 1442 1301"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 1335 587 1402">Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="587 1335 762 1402">Protein</td> <td data-bbox="762 1335 922 1402">AFP</td> <td data-bbox="922 1335 1082 1402">20</td> <td data-bbox="1082 1335 1241 1402"></td> <td data-bbox="1241 1335 1442 1402"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 1435 587 1503">Endoderm <i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="587 1435 762 1503">Protein</td> <td data-bbox="762 1435 922 1503">SMA</td> <td data-bbox="922 1435 1082 1503">20</td> <td data-bbox="1082 1435 1241 1503"></td> <td data-bbox="1241 1435 1442 1503"></td> </tr> </tbody> </table>	Comentarios	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>	Protein	TUJ1	20			Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Protein	AFP	20			Endoderm <i>Endoderm</i>	Protein	SMA	20																							
Comentarios	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>	Protein	TUJ1	20																																											
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Protein	AFP	20																																											
Endoderm <i>Endoderm</i>	Protein	SMA	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>																																													

<p>Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="432 152 751 219">Método</th> <th data-bbox="751 152 911 219">Marcador</th> <th data-bbox="911 152 1070 219">Nº pase</th> <th data-bbox="1070 152 1444 219">Resultado</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="432 219 751 286">Comentarios <i>Method</i></td> <td data-bbox="751 219 911 286"><i>Marker</i></td> <td data-bbox="911 219 1070 286"><i>Passage n</i></td> <td data-bbox="1070 219 1444 286"><i>Results</i></td> </tr> <tr> <td colspan="4" data-bbox="432 286 1444 353"><i>Comments</i></td> </tr> <tr> <td colspan="4" data-bbox="432 353 1444 421">Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> </tr> <tr> <td colspan="4" data-bbox="432 421 1444 488">Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> </tr> <tr> <td colspan="4" data-bbox="432 488 1444 600">Endodermo <i>Endoderm</i></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 <i>Ectoderm</i>				Mesodermo <i>Mesoderm</i>				Endodermo <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 <i>Ectoderm</i>																									
Mesodermo <i>Mesoderm</i>																									
Endodermo <i>Endoderm</i>																									
<p>Descripción de las características de diferenciación <u>in vivo</u> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i></p>	<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>																								
<p>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i></p>	<p>Pase 20, cariotipo 46, XY Ver ANEXO 1</p> <p>Passage 20, karyotype 46, XY See ANNEX 1</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>Se ha llevado a cabo análisis de la huella genética por análisis de microsatélites/STR (ver ANEXO I).</p> <p>To confirm the cell identity a DNA fingerprinting assay has been carried out (See ANNEX 1)</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>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. (ANEXO 1)</p> <p>iPSC cells have been confirmed mycoplasma-free by PCR (ANNEX 1)</p>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

<p>Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> RAFAEL GARESSE ALARCÓN</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): 91-585-44-52</p> <p>Fax: 91 585-44-01</p> <p>E-mail: rafa.gresse@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

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.

<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>José Manuel González Sancho</p>  <p>11-09-2017</p> <p>Fecha/ Date:</p>	<p>Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p>Rafael Garesse Alarcón</p>  <p>11-09-2017</p> <p>Fecha /Date</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</p>	
<p>Dirección Postal: <i>Postal Address:</i></p> <p>91 585-44-01</p>	<p>Teléfono /Telephone: 91-497-40-08</p> <p>Fax: 91-497-67-55</p> <p>E-mail: vicerrectorado.investigacion@uam.es</p>