

Fecha de recepción (Date received):

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: 27/10/2020

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
- Número de registro del proyecto**

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>	CVTTHi001-A
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)	CVTTHi001-A
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>	Muestra original: Fibroblastos de la piel (brazo) Original sample: Fibroblasts from the skin (arm)
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Hombre 22 Male 22 years old
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) APDS2 syndrome 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) c.1425+2delT 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> 28/08/2019	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 28/08/2019																																																																				
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 DMEM (Thermo Fisher) with 10% FBS (Thermo Fisher) supplemented with 1 mM Glutamax (Life Technologies) and 50 U/mL de penicillin/streptomycin (LifeTechnologies) 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>	Method: AmpF \mathbb{F} STR™ Identifiler™ Plus PCR Amplification Kit (Applied Biosystems #4427368). See Annex 4. sample: APDS2 fibroblasts AmpFISTR loci Alleles <table border="1" data-bbox="531 869 1390 1391"> <thead> <tr> <th>Sample Name</th> <th>Marker</th> <th>Allele 1</th> <th>Allele 2</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>AMEL</td><td>X</td><td>Y</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>CSF1PO</td><td>8</td><td>11</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D13S317</td><td>13</td><td></td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D16S539</td><td>11</td><td>13</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D18S51</td><td>12</td><td></td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D19S433</td><td>14</td><td></td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D21S11</td><td>29</td><td>31,2</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D2S1338</td><td>17</td><td>22</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D3S1358</td><td>17</td><td>18</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D5S818</td><td>12</td><td>13</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D7S820</td><td>8</td><td>10</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>D8S1179</td><td>14</td><td>15</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>FGA</td><td>20</td><td>21</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>TH01</td><td>6</td><td></td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>TPOX</td><td>8</td><td>9</td></tr> <tr><td>CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)</td><td>vWA</td><td>16</td><td></td></tr> </tbody> </table>	Sample Name	Marker	Allele 1	Allele 2	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	AMEL	X	Y	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	CSF1PO	8	11	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D13S317	13		CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D16S539	11	13	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D18S51	12		CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D19S433	14		CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D21S11	29	31,2	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D2S1338	17	22	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D3S1358	17	18	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D5S818	12	13	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D7S820	8	10	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D8S1179	14	15	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	FGA	20	21	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	TH01	6		CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	TPOX	8	9	CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	vWA	16	
Sample Name	Marker	Allele 1	Allele 2																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	AMEL	X	Y																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	CSF1PO	8	11																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D13S317	13																																																																			
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D16S539	11	13																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D18S51	12																																																																			
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D19S433	14																																																																			
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D21S11	29	31,2																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D2S1338	17	22																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D3S1358	17	18																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D5S818	12	13																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D7S820	8	10																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	D8S1179	14	15																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	FGA	20	21																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	TH01	6																																																																			
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	TPOX	8	9																																																																		
CVTTHi001-A (iPSC Clone APDS2)	vWA	16																																																																			
¿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 6. Yes. Passage 6.																																																																				
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 células de pluripotencia inducida (iPSC) a partir de fibroblastos dérmicos provenientes de un paciente con síndrome de APDS2 (Activated PI3 kinase delta syndrome 2) mediante el método no-integrativo con virus Sendai (kit CytoTune-iPS 2.0 Sendai Reprogramming - Invitrogene #A16517-) . Expresión ectópica de los factores de transcripción pluripotentes OCT3/4, KLF4, SOX2 y C-MYC. Generation of induced pluripotency cells (iPSC) from dermal fibroblasts from a patient with APDS2 syndrome (Activated PI3 kinase delta syndrome 2) using the non-integrative method with Sendai virus (CytoTune-iPS 2.0 Sendai Reprogramming kit - Invitrogene # A16517-). Ectopic expression of the pluripotent transcription factors OCT3 / 4, KLF4, SOX2 and C-MYC																																																																				

<p>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></p>	<p>Medio/medium Essential 8 (Gibco #A1517001)</p>
<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 medianas y grandes con la morfología redondeada típica de las iPSCs. Su tamaño oscila entre las 1 a 3 mm de diámetro con bordes lisos. Células de tamaño y bordes uniformes.</p> <p>Medium and large colonies with the iPSC's typical rounded morphology. Their size range from 1 to 3 mm of diameter with smooth edges. Cells show uniform size and borders.</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>Los fragmentos de colonias se congelan usando FBS (90%) con DMSO (10%) mediante contenedor de isopropanol a -80°C (1°C/min) y se almacenan en nitrógeno líquido. Se descongelan a 37°C mediante descongelación rápida con medio Essential 8.</p> <p>Colony clumps are cryopreserved in FBS (90%) with DMSO (10%) by isopropanol container at -80°C (1°C/min) and stored in liquid nitrogen. Vials are thawed quickly at 37°C with Essential 8 medium</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>Passe/passage 14</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>Se informará de al menos 5 de los siguientes marcadores</p> <p><i>At least 5 of the following test will be reported</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 Immunofluor.</td> <td>22</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nanog Immunofluor</td> <td>22</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sox 2 Immunofluor.</td> <td>22</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA3</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA4 Immunofluor./cytometry</td> <td>22/23</td> <td>+/+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-60</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-81 Immunofluor.</td> <td>22</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fosfatasa. Alk</td> <td colspan="3">No se dispone de resultados de fosfatasa alcalina</td> </tr> <tr> <td colspan="4">Ver Anexo 5. See Annex 5.</td> </tr> </tbody> </table>	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Oct 4 Immunofluor.	22	+		Nanog Immunofluor	22	+		Sox 2 Immunofluor.	22	+		SSEA3				SSEA4 Immunofluor./cytometry	22/23	+/+		TRA-1-60				TRA-1-81 Immunofluor.	22	+		Fosfatasa. Alk	No se dispone de resultados de fosfatasa alcalina			Ver Anexo 5. See Annex 5.			
Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																						
Oct 4 Immunofluor.	22	+																																							
Nanog Immunofluor	22	+																																							
Sox 2 Immunofluor.	22	+																																							
SSEA3																																									
SSEA4 Immunofluor./cytometry	22/23	+/+																																							
TRA-1-60																																									
TRA-1-81 Immunofluor.	22	+																																							
Fosfatasa. Alk	No se dispone de resultados de fosfatasa alcalina																																								
Ver Anexo 5. See Annex 5.																																									
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Comentarios</th> <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>Immunofluor.</td> <td>Tuj1 / GFAP</td> <td>23</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td>Immunofluor.</td> <td>ASMA / Sox9</td> <td>23</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Endoderm <i>Endoderm</i></td> <td>Immunofluor.</td> <td>FoxA2</td> <td>23</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="6">Ver Anexo 6. See Annex 6.</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>	Immunofluor.	Tuj1 / GFAP	23	+		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Immunofluor.	ASMA / Sox9	23	+		Endoderm <i>Endoderm</i>	Immunofluor.	FoxA2	23	+		Ver Anexo 6. See Annex 6.															
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>	Immunofluor.	Tuj1 / GFAP	23	+																																					
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Immunofluor.	ASMA / Sox9	23	+																																					
Endoderm <i>Endoderm</i>	Immunofluor.	FoxA2	23	+																																					
Ver Anexo 6. See Annex 6.																																									
<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>La diferenciación inducida in vitro se hizo siguiendo las instrucciones del kit STEMDiff (STEMCELL #05230)</p> <p><i>In vitro induced differentiation was done following the instructions of the STEMDiff kit (STEMCELL # 05230)</i></p>																																								

Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	<i>Comments</i>
Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>						
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica en el pase de banqueo) <i>Karyotype (Specify karyotype formula in the passage in which it is banked)</i>	46, XY. Passage 23. Ver Anexo 7. See Annex 7.					
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>	Los marcadores de microsatélites de la muestra parental de fibroblastos coinciden con los de la línea iPS generada. Microsatellite markers of the parental fibroblast sample are identical to the iPS line generated. Ver Anexo 4. See Annex 4.					
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	No se usa ningún test de integración ya que el método es no-integrativo. No integration test is used since the method is non-integrative					

<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>Extracción de ARN y realización de RT-PCR con primers específicos para la detección de los factores de reprogramación del CytoTune iPS 2.0 kit (la secuencia de los primers esta especificada en el manual del kit). Los productos de PCR se corren en un gel de agarosa al 1%.</p> <p>RNA extraction and RT-PCR with specific primers for the detection of the reprogramming factors of the CytoTune iPS 2.0 kit (the sequence of the primers is specified in the kit manual). The PCR products were visualized in 1% agarose gel. Ver Anexo 8. See Annex 8.</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>La mutación genética tanto de las iPSC generadas como de la línea parental de fibroblastos se realizó mediante secuenciación Sanger.</p> <p>The genetic mutation of the generated iPSCs and the parental fibroblast line was carried out by Sanger sequencing.</p> <p>Ver Anexo 9. See Annex 9.</p>
<p>Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i></p>	<p>Negativo por PCR. Negative for PCR.</p>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE
Section 3 Applicant Details

<p>Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Dra. Cristina Eguizabal Argaiz</p>	<p>Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Barrio Labeaga 46A, 48960 Galdakao</p>
<p>Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Centro Vasco de Transfusion y Tejidos Humanos- Instituto de Investigaciones Sanitarias Biocruces Bizkaia. CVTTH-IIS Biocruces Bizkaia</p>	<p>Teléfono (phone): +34 944007151</p> <p>Fax:</p> <p>E-mail: cristina.eguizabalargaiz@osakidetza.eus</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.

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> Dr. Miguel Angel Vesga  Osakidetza Servicio vasco de salud Fecha/ Date: 28/10/2020	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Dra. Cristina Eguizabal Argaiz  Fecha /Date 28/10/2020
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro. <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Director Médico del Centro Vasco de Transfusión y Tejidos Humanos	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Barrio Labeaga 46A, 48960 Galdakao	Teléfono /Telephone: Fax: E-mail:

(1) Instrucciones para la realización del registro de líneas hESC y hiPSC generadas en España en el Human Pluripotent Stem Cell Registry

Entre en la página web: <https://hpscereg.eu/>

Cree su perfil rellenando el formulario on-line Sign up form. Después de hacer click en Sign up, recibirá el mensaje de confirmación de los datos y se le enviará el correo electrónico de confirmación.

Registro de líneas:

- Register Cell Line> Create a standard cell line name> Generator Institution: Assign an existing institution: Introducir: Spanish Stem Cell Bank
- hPSCreg Team <hpscereg-info@charite.de> le confirmará la asignación de Spanish Stem Cell Bank a su perfil por correo electrónico. En este momento su estado en Dashboard (My institutions) de Applicant cambiará a Registrant para esta institución.
- Volver a Generator Institution> seleccionar en el desplegable Spanish Stem Cell Bank.
- El nombre provisional (Provisional name) debe de empezar por ES.
- En Alternative names introduzca el nombre de la línea con el que se deposita en el BNLC, según las indicaciones:
- http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-el-instituto/fd-organizacion/fd-estructura-directiva/fd-subdireccion-general-investigacion-terapia-celular-medicina-regenerativa/fd-centros-unidades/fd-banco-nacional-lineas-celulares/Nomenclatura_iPS_BNLC_2015.pdf