

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 iPSC HUMANA

Application Form to Register and Deposit of an human iPSC cell line

FECHA: 14/9/21

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 de Ética de la Investigación 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 iPSC <i>Name of the iPSC line:</i>	NAGLU4	
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)	UBi001-A-4	
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>	iPSCs WT (UBi001-A) derivadas de fibroblasts de dermis procedentes de biopsia de piel (anexo 1). iPSCs WT (UBi001-A) derived from dermal fibroblasts from skin biopsy (annex 1).	
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Masculino Male	No disponible Not available
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> No	SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> No	SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) Yes (specify)

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco <input type="checkbox"/> Crioconservado <input checked="" 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>	No disponible Not available
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	2019
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR/otros marcadores de las células de origen <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR/ other markers of the original cells.</i>	Sí. Coincidencia 100% (anexo 2, Suppl.Fig.1A, y anexo 3). Yes, 100% matched (annex 2, Suppl.Fig 1A, and annex 3).
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)</i> <i>Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	La línea original WT1-iPS fue generada a partir de fibroblastos mediante infección con retrovirus (anexo 1). La línea NAGLU4 fue generada mediante modificación de la línea WT1-iPS utilizando CRISPR/Cas9 en formato de ribonucleoproteína, integrativa (anexo 2). The original cell line WT1-iPS was generated from fibroblasts infected with retrovirus (annex 1). The NAGLU4 line was generated through modification of the WT1-iPS line using CRISPR/Cas9 in ribonucleoprotein format, integrative (annex 2).
Condiciones de cultivo de la línea de iPSC generada. (si se describen en publicación, indicar referencia) <i>iPSC Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>	Support: Matrigel (Corning BV) or Biolaminin 521 (#LN521, BioLamina) Culture medium: StemFlex Medium (#A3349401, Gibco) with 0.5% Penicillin Streptomycin (P/S, #15140-122, Gibco) maintained at 37 °C in humidified air with 5% CO ₂ .
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	La congelación de los clumps de colonias se ha realizado en FBS (90%) + DMSO (10%), mediante contenedor de isopropanol a -80°C (-1°C/min). Los viales se han descongelado a 37°C mediante descongelación rápida. The clumps of colonies were cryopreserved in FBS (90%) + DMSO (10%), in isopropanol containers at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.
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>	42
¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i>	Sí Yes <input checked="" type="checkbox"/> No No <input type="checkbox"/> Especificar: Mutación homocigota en el gen NAGLU generada por CRISPR/Cas9: p.(Phe288_1lefs*27) (anexo 2). <i>Specify:</i>

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

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

Test de pluripotencia <i>Pluripotency test</i>	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	
Se informará de al menos 5 de los siguientes marcadores <i>At least 5 of the following test will be reported</i>	Oct 4 inmunocitoq. + qPCR	15	+	(anexo 2)	
	Nanog inmunocitoq. + qPCR	15	+	(anexo 2)	
	Sox 2 inmunocitoq. + qPCR	42	+	(anexo 4)	
	SSEA3				
	SSEA4 inmunocitoq. + qPCR	42	+	(anexo 4)	
	TRA-1-60 inmunocitoq. + qPCR	42	+	(anexo 4)	
	TRA-1-81				
Fosfatasa. Alk tinción		42	+	(anexo 4)	
Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i>	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>
Cuerpos embrioides <i>Embryoid bodies</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq. Tuj1	15	+	(anexo 2)
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA	15	+	(anexo 2)
	Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunocitoq. AFP	15	+	(anexo 2)
Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>
Teratomas <i>Teratomas</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>				
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>				
	Endodermo <i>Endoderm</i>				

Cariotipo (pase) <i>Karyotype (passage)</i>	46, XY (38). (Anexo 7)
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR/ otros marcadores de la línea celular/ Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR/ other cell line markers	<p>Sí. Coincidencia 100% (anexo 2, Suppl.Fig.1A, y anexo 3).</p> <p>Yes, 100% matched (annex 2, Suppl.Fig 1A, and annex 3).</p>
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	<p>Realizado en la línea original WT1-iPs (anexo 1, Suppl., y anexo 5)</p> <p>Performed in the original line WT1-iPS (see annex 1, Suppl., and annex 5)</p>
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	<p>La qRT-PCR evidenció los niveles de expresión de mRNA de marcadores de pluripotencia endógenos y silenciamiento de mRNA de los factores de transcripción exógenos usados para la reprogramación (Figuras 1C y S1B del anexo 1).</p> <p>qRT-PCR showed evidence of mRNA expression of endogenous pluripotency transcription factors while silencing of mRNA expression of exogenous transcription factors used for reprogramming (Figures 1C and S1B, annex 1).</p>
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	<p>No procede. Se confirmó la mutación homocigota en el gen NAGLU generada por CRISPR/Cas9: p.(F288Ifs*27) (anexo 2, Fig. 1B).</p> <p>Not applicable. The homozygous mutation in the NAGLU gene, p.(F288Ifs*27), generated by CRISPR/Cas9, were confirmed (annex 2, Fig. 1B).</p>
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	<p>Negativo por PCR (anexo 2, Suppl.Fig. 1B, y anexo 6).</p> <p>Negative by PCR (annex 2, Suppl.Fig. 1B, and annex 6).</p>

SECCIÓN 3 **DATOS DEL DEPOSITANTE**
Section 3 *Applicant Details*

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Prof. Daniel Grinberg Vaisman	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Av. Diagonal 643, E08028, Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Dept. Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona	Teléfono (phone): 934 035 716 - 680 134 016 Fax: 934 034 420 E-mail: dgrinberg@ub.edu

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):

Debe considerarse también como investigador principal al Dr. Isaac Canals Montferrer (actualmente en la Universidad de Lund, Suecia). Dr. Noelia Benetó Gandía generated the iPS cells.

Dr. Isaac Canals Montferrer (now at Lund University, Sweden) should also be considered principal investigator.
Dr. Noelia Benetó Gandía generated the iPS cells.

Otras observaciones o información relevantes (a rellenar por el BNLC):

Other comments or relevant information (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>	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>
Fecha/ Date:	Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Prof. Jordi García Fernández, Vicerector de Recerca de la Universitat de Barcelona	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Vicerectorat de Recerca, Universitat de Barcelona, Edifici Històric, Pati de Ciències, 1r pis, Gran Via de les Corts Catalanes, 585, 08007 Barcelona	Teléfono /Telephone: 934 035 512 Fax: E-mail: vr.recerca@ub.edu

Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación <i>Signature of the responsible for the iPSC generation/ Generation center</i>	
Fecha/ Date:	
Nombre y Cargo del responsable de la generación: <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Dr. Daniel Grinberg Vaisman, Catedrático de Genética	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Dept. Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Av. Diagonal 643, E08028, Barcelona	Teléfono /Telephone: 934 035 716 - 680 134 016 Fax: 934 034 420 E-mail: dgrinberg@ub.edu

(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 de Nomenclatura del BNLC:

<https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/BIOBANCOS/BNLC/Paginas/SolicitudDeposito.aspx>