

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:

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 iPSC 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>	BST PBiPS4-Sv4F-6
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)	
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>	Células mononucleadas de sangre periférica Peripheral Blood Mononuclear Cells
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Masculino, 47 años Male, 47 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) <i>No Yes (specify)</i>
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) <i>No Yes (specify)</i>

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>	21/02/2018
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	21/02/2018
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>	<p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial se analizaron con el kit AmpFISTR-TM-Identifiler-TM-Plus PCR Amplification (Applied Biosystems)</p> <p>Microsatellite markers of the initial sample were analyzed using AmpFISTRMTIdentifilerTMPlus PCR Amplification (Applied Biosystems).</p>
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>	<p>Generación de las células de pluripotencia inducida (iPSC) a partir de células mononucleadas de sangre periférica de un donante, con el kit de reprogramación CytoTune®-iPS 2.0 Sendai, un sistema no integrativo que utiliza vectores del virus Sendai. Este kit incluye tres vectores: policistrónico Klf4-hOct3/4-Sox2, cMyc y Klf4.</p> <p>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from Peripheral Blood Mononuclear Cells from a donor with the CytoTune®-iPS 2.0 Sendai Reprogramming Kit, a non-integrating system that uses Sendai virus vectors. This kit includes three vector preparations: polycistronic Klf4-Oct3/4-Sox2, cMyc, and Klf4.</p>
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>	<p>Las células hiPSC se cultivan sobre Laminina-521(StemCell Technologies) y con el medio de cultivo mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies) a 37°C y 5% de CO2.</p> <p>hiPSCs are cultured on Laminin-521 (StemCell Technologies) and the culture medium mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies) at 37°C, 5% CO2.</p>
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	<p>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.</p> <p>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.</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>	p15

¿Ha sido la línea modificada genéticamente?

Has the line been genetically modified?

Sí Yes **No** No

Especificar:
Specify:

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

<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 ICQ</td> <td>p14</td> <td>+</td> <td>Anexo 1</td> </tr> <tr> <td>Nanog ICQ</td> <td>p14</td> <td>+</td> <td>Anexo 1</td> </tr> <tr> <td>Sox 2 ICQ</td> <td>p14</td> <td>+</td> <td>Anexo 1</td> </tr> <tr> <td>SSEA3 ICQ</td> <td>p14</td> <td>+</td> <td>Anexo 1</td> </tr> <tr> <td>SSEA4 ICQ</td> <td>p14</td> <td>+</td> <td>Anexo 1</td> </tr> <tr> <td>TRA-1-60 ICQ</td> <td>p14</td> <td>+</td> <td>Anexo 1</td> </tr> <tr> <td>TRA-1-81 ICQ</td> <td>p14</td> <td>+</td> <td>Anexo 1</td> </tr> <tr> <td>Fosfatasa. Alk Activity Live staining</td> <td>p8</td> <td>+</td> <td>Anexo 1</td> </tr> </tbody> </table>	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Oct 4 ICQ	p14	+	Anexo 1	Nanog ICQ	p14	+	Anexo 1	Sox 2 ICQ	p14	+	Anexo 1	SSEA3 ICQ	p14	+	Anexo 1	SSEA4 ICQ	p14	+	Anexo 1	TRA-1-60 ICQ	p14	+	Anexo 1	TRA-1-81 ICQ	p14	+	Anexo 1	Fosfatasa. Alk Activity Live staining	p8	+	Anexo 1
Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																		
Oct 4 ICQ	p14	+	Anexo 1																																		
Nanog ICQ	p14	+	Anexo 1																																		
Sox 2 ICQ	p14	+	Anexo 1																																		
SSEA3 ICQ	p14	+	Anexo 1																																		
SSEA4 ICQ	p14	+	Anexo 1																																		
TRA-1-60 ICQ	p14	+	Anexo 1																																		
TRA-1-81 ICQ	p14	+	Anexo 1																																		
Fosfatasa. Alk Activity Live staining	p8	+	Anexo 1																																		
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p> <p>Cuerpos embrioides <i>Embryoid bodies</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <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 ICQ <i>Ectoderm</i></td> <td>Tuj1/Pax6</td> <td>p14</td> <td>+/+</td> <td>Anexo 2</td> </tr> <tr> <td>Mesodermo ICQ <i>Mesoderm</i></td> <td>Brachury/CXCR4</td> <td>p14</td> <td>+/+</td> <td>Anexo 2</td> </tr> <tr> <td>Endoderm ICQ <i>Endoderm</i></td> <td>FOXA2/CXCR4</td> <td>p14</td> <td>+/+</td> <td>Anexo 2</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 ICQ <i>Ectoderm</i>	Tuj1/Pax6	p14	+/+	Anexo 2	Mesodermo ICQ <i>Mesoderm</i>	Brachury/CXCR4	p14	+/+	Anexo 2	Endoderm ICQ <i>Endoderm</i>	FOXA2/CXCR4	p14	+/+	Anexo 2																
Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																	
Ectodermo ICQ <i>Ectoderm</i>	Tuj1/Pax6	p14	+/+	Anexo 2																																	
Mesodermo ICQ <i>Mesoderm</i>	Brachury/CXCR4	p14	+/+	Anexo 2																																	
Endoderm ICQ <i>Endoderm</i>	FOXA2/CXCR4	p14	+/+	Anexo 2																																	
<p>Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i></p> <p>Teratomas <i>Teratomas</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <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 IHC <i>Ectoderm</i></td> <td>Neuro200/GFAP</td> <td>p16</td> <td>+/+</td> <td>Anexo 3</td> </tr> <tr> <td>Mesodermo IHC <i>Mesoderm</i></td> <td>ASMA/ASA</td> <td>p16</td> <td>+/+</td> <td>Anexo 3</td> </tr> <tr> <td>Endodermo IHC <i>Endoderm</i></td> <td>FOXA2/AFP</td> <td>p16</td> <td>+/+</td> <td>Anexo 3</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 IHC <i>Ectoderm</i>	Neuro200/GFAP	p16	+/+	Anexo 3	Mesodermo IHC <i>Mesoderm</i>	ASMA/ASA	p16	+/+	Anexo 3	Endodermo IHC <i>Endoderm</i>	FOXA2/AFP	p16	+/+	Anexo 3																
Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																	
Ectodermo IHC <i>Ectoderm</i>	Neuro200/GFAP	p16	+/+	Anexo 3																																	
Mesodermo IHC <i>Mesoderm</i>	ASMA/ASA	p16	+/+	Anexo 3																																	
Endodermo IHC <i>Endoderm</i>	FOXA2/AFP	p16	+/+	Anexo 3																																	

Cariotipo (pase) <i>Karyotype (passage)</i>	46, XY; p12 (Anexo 4)
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>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial coinciden con los de la línea iPS generada (Anexo 5)</p> <p>Microsatellite markers of the initial sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 5).</p>
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	<p>No procede, debido a que se trata de un método no-integrativo</p> <p>Not applicable, due to non-integrating reprogramming methodology</p>
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	<p>El análisis mediante RT-PCR mostró la ausencia de mRNA derivado de virus Sendai en la línea de iPSC y la presencia de mRNA derivado de virus Sendai en células control tras 1 semana de transducción (Anexo 6).</p> <p>The RT-PCR showed absence of Sendai virus derived mRNAs in iPSCs and presence of Sendai virus derived mRNAs in virus-transduced control cells 1 week after transduction (Annex 6).</p>
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	<p>Se confirma que la línea hiPSC presenta en homocigosi la delección del gen de la Glicoforina B. Tipificación (S-s-U-) realizada mediante la tecnología BloodChip.</p> <p>It is confirmed that the hiPSC line has a Glycophorin B gene deletion in homozygosis. Typing (S-s-U-) carried out by BloodChip technology.</p>
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	<p>Negativo por ELISA (Anexo 8)</p> <p>Negative by ELISA (Annex 8)</p>

SECCIÓN 3
Section 3

DATOS DEL DEPOSITANTE
Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Bigas Salvans	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Dr Aiguader, 88. 08003 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Hospital del Mar Research Institute (IMIM)	Teléfono (phone): 933160440 Fax: E-mail: abigas@imim.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)

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:	Anna Bigas Salvans Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i>	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Hospital del Mar Research Institute (IMIM) Dr. Aiguader, 88. 08003 Barcelona	Teléfono /Telephone: 933160440 Fax: E-mail: abigas@imim.es

Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación <i>Signature of the responsible for the iPSC generation/</i> <i>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> Núria Nogués Gálvez Investigador Principal Laboratorio Inmunoematología del Banc de Sang i Teixits (BST)	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Edifici Dr Frederic Duran i Jordà Passeig Taulat, 116 08005 Barcelona	Teléfono /Telephone: 935573500 Fax: E-mail: nnoques@bst.cat

(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>