

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>	CBiPS8-3F-4 SAMD9 I1567M
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)	ESi086-A-3
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 CD133+ de sangre de cordón umbilical CD133+ cells from cord blood
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Masculino 0 años 0 years old male
¿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</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>

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>	07/06/2012 June, 7th, 2012
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	07/06/2012 June, 7th, 2012
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>	Los marcadores de microsatélites de las iPSCs coinciden con los de la muestra original CBIPS8-3F-4 (Anexo 1) Genetic fingerprinting match with the original sample CBIPS8-3F-4 (Annex 1)
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>	Esta línea proviene de la edición genética de la línea CBIPS8-3F-4 que se generó con el método integrativo de retrovirus Oct3/4, Sox2 y Klf4 This cell line is an gene edited form of the original CBIPS8-3F-4, which an integrative method (retroviruses for Oct3/4, Sox2 and Klf4) was used.
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>	Generation Support: mouse embryonic fibroblasts (GlobalStem, CF-1 MEF, GSC-6001G). Culture medium: Knockout Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 2 mmol/l GlutaMAX (Gibco, Invitrogen corporation), 0,05%mmol/l 2-mercaptoethanol (Gibco, InVitrogen corporation), 10ng/ml basic fibroblast growth factor (bFGF) (Peprotech), 1% non- essential amino acids (SigmaAldrich), 20% Knockout Serum Replacement (Gibco) y 0.5% PenicilinStreptomycin (Sigma-Aldrich). Maintenance Support: Matrigel (Corning BV) Culture media: mTeSR Basal Medium Kit(Stem Cell Technologies)
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+ 10% DMSO mediante contenedor de isorpropanol 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+10%DMSO 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>	Pase 36. Se han realizado tantos pases debido a que la línea ha sido modificada genéticamente y se han necesitado varios pases para el clonaje. p36 Due to the genetic modification we needed to maintain the cell line for several passages until we obtained a single clone

¿Ha sido la línea modificada genéticamente?

Has the line been genetically modified?

Sí Yes **No** No

Especificar: Mutación en SAMD9 I1567M en heterocigosis (Anexo 2)
Heterozygous SAMD9 I1567M mutation
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

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 qPCR	38	+	Anexo 3		
	Nanog qPCR	38	+	Anexo 3		
	Sox 2 qPCR	38	+	Anexo 3		
	SSEA3					
	SSEA4 Flow cytometry	38	+	Anexo 3		
	TRA-1-60 Flow cytometry	38	+	Anexo 3		
	TRA-1-81 Flow cytometry	38	+	Anexo 3		
Fosfatasa. Alk Actividad		38	+	Anexo 3		
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>	Immunofl	GFAP/TUJ1	39	+/+	Anexo 4
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Immunofl	CD45+	39	+	Anexo 4
	Endodermo <i>Endoderm</i>	Immunofl	FOXA2/AFP	39	+/+	Anexo 4
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 p.36 (Anexo X)
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	Los marcadores de microsatélites coinciden con los de la muestra original CBiPS8-3F-4 (Anexo 1) Genetic fingerprinting match with the original sample CBiPS8-3F-4 (Annex 1)
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	Se observa integración de los transgenes de OCT4, SOX2, KLF4 (Anexo 3) Integration of transgenes OCT4, SOX2 and KLF4 are seen by PCR (Annex 3)
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	Debido a que esta línea proviene de la línea CBiPS8-3F-4, y estos ya se encontraban silenciados, no se realizaron. Se puede observar el silenciamiento de los transgenes de la línea madre CBiPS8-3F-4 en el Anexo 3 Due to this line is derived from CBiPS8-3F-4, and they were already silenced, we did not analyzed this. The silencing of the transgene can be seen in Annex 3.
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	No procede Not required
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR (Anexo 6) Negative by PCR (Annex 6)

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

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Alessandra Giorgetti	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Av. Gran Via Hospitalet 199. Hospital de Llobregat Duran i Reynalds 08908
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Institut d'Investigació Biomèdica de Bellbitge (IDIBELL)	Teléfono (phone): 933160346 Fax: E-mail: agiorgetti@idibell.cat

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

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.

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: 04/07/2022	Fecha /Date 04/07/2022
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Gabriel Capellá Munar - Director	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Hospital Duran i Reynals Avda. Gran Via de l'Hospitalet, 199 08908 L'Hospitalet de Llobregat	Teléfono /Telephone: 932607291 Fax: E-mail: director@idibell.cat

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: 04/07/2022	
Nombre y Cargo del responsable de la generación: <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Alessandra Giorgetti, Principal Investigator	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Av. Gran Via Hospitalet 199. Hospitalet de Llobregat Duran i Reynalds 08908	Teléfono /Telephone: 933160346 Fax: E-mail: agiorgetti@idibell.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>