

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: 19/1/2017

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>	[DUP7] FiPS-4F-4-6
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>	Fibroblastos de dermis procedentes de biopsia de piel. <i>Dermal fibroblasts from skin biopsy.</i>
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino/Female 13 años/13 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Autismo (DUP7) /Autism (DUP7) <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 type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) 7q.11.23 duplication <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(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> 14.02.2012	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 02.2013
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: IMDM + 10%FBS + 0,5% Penicilin-Streptomycin (Gibco, InVitrogen corporation). 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>	Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5) <i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 5)</i>
¿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>	1 vial p1; 11 viales p2 <i>1 vial p1; 11 vials p2</i>
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>	Generación de las células pluripotenciales inducidas (iPSC) a partir de los fibroblastos de un paciente que presenta la duplicación 7q.11.23,), mediante infección retroviral con expresión ectópica de 4 factores de transcripción (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc), y un constructo tricistrónico (pMXsKLF4 MYCGFP) <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from fibroblasts of a patient showing duplication 7q.11.23, by retroviral infection with ectopic expression of 4 transcription factors (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc), using tricistronic retroviral plasmids pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange and pMXsKLF4 MYCGF).</i>
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>	Support: human foreskin fibroblasts (ATCC, American Type Culture Collection, CCD1112Sk). Culture medium: Knockout Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 2 mmol/l GlutaMAX (Gibco, InVitrogen corporation), 0,05mmol/l 2-mercaptoethanol (Gibco, InVitrogen corporation), 10 ng/ml basic fibroblast growth factor (bFGF) (Invitrogen), 1% non-essential amino acids (Cambrex), 20% Knockout Serum Replacement (InVitrogen) y 0,5% Penicillin-Streptomycin (Gibco, InVitrogen corporation). Support: Matrigel (Corning BV) Culture medium: mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies)
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>	Colonias grandes poligonales, ligeramente aplanadas, de un tamaño entre 1- 3 mm de diámetro de diversas formas con bordes lisos. Células de tamaño uniforme y una elevada relación núcleo/citoplasma. <i>Large and flat polygonal colonies, with uniformly sized cells of 1-3 mm of diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i>

<p>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p>	<p>La congelación de los clumps de colonias se ha realizado en FBS(90%) + DMSO(10%), mediante congelador programable (0.5°C/min.) o mediante contenedor de isopropanol a -80°C (1°C/min). Los viales se han descongelado a 37°C mediante descongelación rápida.</p> <p><i>The clumps of colonies were cryopreserved in FBS(90%)+ DMSO (10%), by programmable freezer (0.5°C/min.) or by isopropanol container at -80°C (1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.</i></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>P65</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"/> 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

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>	
Anexo 1 <i>Annex 1</i>	Oct 4 inmunocitoq. Nanog inmunocitoq. Sox 2 inmunocitoq. SSEA3 inmunocitoq. SSEA4 inmunocitoq. TRA-1-60 inmunocitoq. TRA-1-81 inmunocitoq. Fosfatasa. Alk inmunocitoq.		+ + + + + + +		
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>
Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i> <i>(espontánea/inducida)</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i>	Ectodermo inmunocitoq. <i>Ectoderm</i>	Tuj1		+	
	Mesodermo inmunocitoq. <i>Mesoderm</i>	ASMA		+	
	Endoderm inmunocitoq. <i>Endoderm</i>	AFP/ FOXA2		+ / +	
	Mesodermo: cultivo de cuerpos embrioides (EBs) en medio de cultivo suplementado con ácido ascórbico. Endodermo: cultivo de cuerpos embrioides. Ectodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio N2/B27 sobre células PA6 (ver Anexo 2). <i>Mesoderm: Embryoid bodies (EBs) cultured in culture medium supplemented with ascorbic acid. Endoderm: EBs culture. Ectoderm: EBs culture in N2/B27on PA6 cells (see Annex 2).</i>				

Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="432 152 592 264"></th> <th data-bbox="592 152 719 264"> Método <i>Method</i> </th> <th data-bbox="719 152 847 264"> Marcador <i>Marker</i> </th> <th data-bbox="847 152 975 264"> Nº pase <i>Passage n</i> </th> <th data-bbox="975 152 1102 264"> Resultado <i>Results</i> </th> <th data-bbox="1102 152 1436 264"> Comentarios <i>Comments</i> </th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="432 264 592 376"> Ectodermo <i>Ectoderm</i> </td> <td data-bbox="592 264 719 376"> inmunohistoq. </td> <td data-bbox="719 264 847 376"> Tuj, GFAP </td> <td data-bbox="847 264 975 376"></td> <td data-bbox="975 264 1102 376"> +/- </td> <td data-bbox="1102 264 1436 376"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 376 592 488"> Mesodermo <i>Mesoderm</i> </td> <td data-bbox="592 376 719 488"> inmunohistoq. </td> <td data-bbox="719 376 847 488"> ASMA/ASA </td> <td data-bbox="847 376 975 488"></td> <td data-bbox="975 376 1102 488"> +/- </td> <td data-bbox="1102 376 1436 488"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 488 592 568"> Endodermo <i>Endoderm</i> </td> <td data-bbox="592 488 719 568"> inmunohistoq. </td> <td data-bbox="719 488 847 568"> AFP/FOXA2 </td> <td data-bbox="847 488 975 568"></td> <td data-bbox="975 488 1102 568"> +/- </td> <td data-bbox="1102 488 1436 568"></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 <i>Ectoderm</i>	inmunohistoq.	Tuj, GFAP		+/-		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohistoq.	ASMA/ASA		+/-		Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohistoq.	AFP/FOXA2		+/-	
	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>	inmunohistoq.	Tuj, GFAP		+/-																					
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohistoq.	ASMA/ASA		+/-																					
Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohistoq.	AFP/FOXA2		+/-																					
Descripción de las características de diferenciación in vivo <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	<p>Inyección intratesticular en ratones SCID de 4•10 mill de células indiferenciadas y tras 8 semanas, análisis de los teratomas producidos mediante técnicas de inmunohistoquímica para ectodermo, mesodermo y endodermo (Anexo 3).</p> <p><i>4·10 mill of undifferentiated cells were injected into the testis of SCID mice. After 8 weeks, teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm (Annex 3).</i></p>																								
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	<p>46,XX (Anexo 4) (Annex 4)</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>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are indentical than the markers of the iPS line (Annex 5)</i></p>																								
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	<p>La PCR evidenció la integración de los 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc. (Anexo 6)</p> <p><i>Integration of the 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc was shown by PCR (Annex 6)</i></p>																								
Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	<p>Se evidenció el silenciamiento de los 4 genes de reprogramación: Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc mediante qRT-PCR (Anexo 6)</p> <p><i>Silencing of reprogramming genes Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc has been shown by qRT-PCR (Annex 6)</i></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 presenta el detalle de la duplicación identificada en la banda 7q11.23 que coincide con la duplicación que presenta el paciente y que se ha descrito en la literatura como causante del Síndrome de la duplicación 7q11.23 (Anexo 7).</p> <p><i>Duplication in the band 7q11.23 has been shown. This duplication is identical to the one present in the patient and that has been described in literature as the cause of the Syndrome of duplication 7q11.23 (Annex 7).</i></p>
<p>Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i></p>	<p>Negativo por PCR (Anexo 8)</p> <p><i>Negative by PCR (Annex 8)</i></p>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE
Section 3 Applicant Details

<p>Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Veiga Lluch</p>	<p>Dirección Postal: <i>Postal address:</i> CMRB Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona</p>
<p>Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB)</p>	<p>Teléfono (phone): 933160360</p> <p>Fax: 933160301</p> <p>E-mail: blc@cmrb.eu</p>

<p>Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Ivón Cuscó Martí</p>	<p>Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Universitat Pompeu Fabra Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona</p>
<p>Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Universitat Pompeu Fabra</p>	<p>Teléfono (phone): 933160855</p> <p>Fax: 933160901</p> <p>E-mail: ivon.cusco@upf.edu</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)

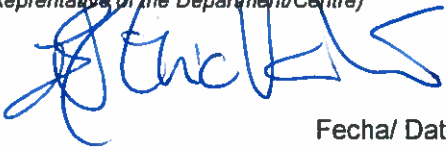

Seguimiento de la línea (a rellenar por el BNLC):
Follow up of the line (to be completed by BNLC)

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>  Fecha/Date: 19/1/2017	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Fecha/Date: 19/1/2017
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Ángel Raya Chamorro, Director Dr. Aiguader, 88 08003 BARCELONA NIF G-63687222	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona Doctor Aiguader, 88, 7ª planta, 08003, Barcelona	Teléfono /Telephone: 933160303 Fax: 933160301 E-mail: gerencia@cmrb.eu

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>  Fecha/Date: 23/01/2017	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Ivon Cuscó Martí  Fecha /Date 23/01/2017
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: Enric Vallduvi <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Vicerector de Investigación y Doctorado	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Unversitat Pompeu Fabra, Departament de Ciències Experimentals i de la Salut, Unitat de Genètica Doctor Aiguader, 88, 4ª planta, 08003, Barcelona	Teléfono /Telephone: 93 316 0874 Fax: E-mail: spc_recerca@upf.edu