

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: 11/01/2018

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>	5PNF_TDiPSsv_MM_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>	Muestra original: Neurofibroma Plexiforme localizado en parte dorsal Se disgrega el tumor en el laboratorio y se reprograma el disgregado tumoral. Original sample: Plexiform Neurofibroma located in dorsal region The tumor is digested in the laboratory and directly reprogrammed
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Masculino 10 años Male 10 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) Neurofibromatosis Tipo 1 <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) Intragenic deletion (E16-35) in NF1 <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>

<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>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).</p> <p>Support: Matrigel (Corning BV). Culture medium: mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies)</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 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.</p> <p>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.</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>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>Colony clumps 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.</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>P8</p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input 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

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>	
	Oct 4	Immunocitoq.	11	+	
	Nanog	Immunocitoq.	11	+	
	Sox 2	Immunocitoq.	11	+	
	SSEA3	Immunocitoq.	11	+	
	SSEA4	Immunocitoq.	11	+	
	TRA-1-60				
	TRA-1-81	Immunocitoq.	11	+	
	Fosfatasa. Alk	Actividad	1	+	
	ver Anexo 2/See Annex 2				
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>
	Ectodermo	Immunocitoq.	TUJ1/GFAP	12	+
	<i>Ectoderm</i>				
	Mesodermo	Immunocitoq.	SMA/GATA4	12	+
	<i>Mesoderm</i>				
	Endoderm	Immunocitoq.	a-FETO/FOXA2	12	+
	<i>Endoderm</i>				
Descripción de las características de diferenciación in vitro <i>(espontánea/inducida)</i>	Mesodermo: cultivo de cuerpos embrioides (EBs) en medio de cultivo suplementado con ácido ascórbico y suero bovino fetal. Endodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio suplementado con suero bovino fetal. Ectodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio N2/B27 (ver Anexo 3).				
<i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i>	Mesoderm: Embryoid bodies (EBs) cultured in medium supplemented with ascorbic acid and fetal bovine serum. Endoderm: EBs culture in medium supplemented with fetal bovine serum. Ectoderm: EBs culture in N2/B27 (see Annex 3).				

<p>Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="440 188 603 224">Comentarios</th> <th data-bbox="609 188 740 224">Método</th> <th data-bbox="746 188 877 224">Marcador</th> <th data-bbox="884 188 1015 224">Nº pase</th> <th data-bbox="1021 188 1152 224">Resultado</th> <th data-bbox="1158 188 1420 224"></th> </tr> <tr> <th data-bbox="440 232 603 268"><i>Comments</i></th> <th data-bbox="609 232 740 268"><i>Method</i></th> <th data-bbox="746 232 877 268"><i>Marker</i></th> <th data-bbox="884 232 1015 268"><i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1021 232 1152 268"><i>Results</i></th> <th data-bbox="1158 232 1420 268"><i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="440 304 603 340">Ectodermo</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 349 603 385"><i>Ectoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 421 603 456">Mesodermo</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 465 603 501"><i>Mesoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 515 603 551">Endodermo</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 560 603 595"><i>Endoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Comentarios	Método	Marcador	Nº pase	Resultado		<i>Comments</i>	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n</i>	<i>Results</i>	<i>Comments</i>	Ectodermo						<i>Ectoderm</i>						Mesodermo						<i>Mesoderm</i>						Endodermo						<i>Endoderm</i>					
Comentarios	Método	Marcador	Nº pase	Resultado																																													
<i>Comments</i>	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n</i>	<i>Results</i>	<i>Comments</i>																																												
Ectodermo																																																	
<i>Ectoderm</i>																																																	
Mesodermo																																																	
<i>Mesoderm</i>																																																	
Endodermo																																																	
<i>Endoderm</i>																																																	
<p>Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i></p>																																																	
<p>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i></p>	<p>46,XY,t(17;22)(q10;q13.3) passage 8 See Annex 4</p>																																																
<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>	<p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial del tumor coinciden con los de la línea iPS generada. (Anexo 5) Microsatellite markers of the tumor sample are identical to the generated iPS line (Annex 5)</p>																																																
<p>Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>Extracción genómica de DNA y PCR con primers específicos para la detección de la ausencia de secuencias del virus sendai (Anexo 6). Extraction of genomic DNA and PCR with specific primers to detect absence of sendai virus sequences (Annex 6)</p>																																																

<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 genómica de DNA y PCR con primers específicos para la detección de los factores de reprogramación (Anexo 6).</p> <p>Extraction of genomic DNA and PCR with specific primers to detect absence of reprogramming factors (Annex 6)</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>Mutación germinal confirmada. Mutación somática confirmada. Ver anexo 7</p> <p>Germinal mutation confirmed. Somatic mutation confirmed. See Annex 7</p>
<p>Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i></p>	<p>Negativo por PCR Negative by PCR</p>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE
Section 3 Applicant Details

<p>Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Eduard Serra Arenas</p>	<p>Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Ctra. Can Ruti, camí escoles s/n 08916 Badalona</p>
<p>Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Institut de Recerca Germans Trias i Pujol (IGTP)</p>	<p>Teléfono (phone): (+34) 93 554 3067 Fax: (+34) 93 465 1472 E-mail: eserra@igtp.cat</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):

Note that there is also another iPS line available generated from the same tumor of the same patient: 5PNF_TDiPSsv_PM_6, carrying only the germline mutation, reprogrammed with sendai virus.

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

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> Dr. Manel Puig Domingo 11/01/2018 	 Institut de Recerca Germans Trias i Pujol CIF: G-60805462 Fecha/ Date: 	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Dr. Eduard Serra Arenas 11/01/2018 Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: Dr. Manel Puig Domingo <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Director		
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Institut de Recerca Germans Trias i Pujol (IGTP) Carretera de Can Ruti, camí de les escoles s/n 08916 Badalona Barcelona	Teléfono /Telephone: 934978653 Fax: 934978654 E-mail: igtp@igtp.cat	