

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: 18 de julio de 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> | Ctr1-FiPS4F1 | | |
| 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.</i> <i>Detail cell type, tissue of origin and anatomic location of the biological sample from which the original line is obtained.</i> <i>If cells are commercial, detail name, reference and trade distributor.</i> | Fibroblastos derivados de piel. Parte interior del brazo Dermal fibroblasts. Skin punch biopsy taken from inner upper arm. | | |
| Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i> | Hombre, 41 años Male, 41 years | | |
| ¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i> | NO <input checked="" type="checkbox"/> No | SÍ <input type="checkbox"/> Yes | (especificar) (specify) |
| ¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i> | NO <input type="checkbox"/> No | SÍ <input type="checkbox"/> Yes | (especificar) (specify) |

| | | |
|---|---|--|
| 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> 11/06/2011 | Fecha del uso o descongelación (si congelado) <i>Date used or thawed (if frozen)</i> | |
| Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i> | DMEM (Invitrogen 21969-035), 2mM Glutamax (Invitrogen #35050-038), 1x Penstrep, 20% FBS (Gibco #10270-106). | |
| ¿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> | No/ No | |
| 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> | Cytotune iPS reprogramming kit (metodo no integrativo/ non-integrative method) SeV virus: Klf4, Oct4, Sox2, c-Myc | |
| 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> | Cultivo sobre fibroblastos humanos del prepucio. Medio de cultivo KO DMEM, KSR 20%, Glutamax 2mM, aminoacidos no esenciales 0.1mM, β-mercaptopropano 0.23mM, basic FGF 10ng/mL, and penicilina/streptomicina. Pase manual cada 6-8 días. Culture on human foreskin feeders. Culture medium: KO DMEM, KSR 20%, Glutamax 2mM, non essential aminoacids 0.1mM, β-mercaptopropano 0.23mM, basic FGF 10ng/mL and penicilina/streptomicina. Cells were mechanically passaged every 6-8 days. | |
| 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 poligonales 1-2mm en diámetro. Elevada relación núcleo/ citoplasma. Polygonal colonies 1-2mm diameter large. High nucleus/cytoplasm ratio. | |
| Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i> | Solución A: 50% hESC medium, 50% KSR; Solución B: 80% hESC medium, 20% DMSO (Sol A:Sol B = 1:1) Criopreservados en recipiente de isopropano a -80°C y posteriormente en nitrógeno líquido. Descongelación rápida a 37°C. Criopreserved in isopropano container at -80°C, over night, and stored in liquid nitrogen the next day. Rapid thawing 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></p> | <p>15</p> |
| <p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i></p> <p>Sí Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p> | <p>¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i></p> <p>Sí Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Resultado / Result</p> |
| <p>Comentarios/ Comments:</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> Ver Anexo/ See Annex | Comentarios | | | | | |
|---|-------------------------|---------------------------|------------------------------|-----------|----------|--|
| | Método <i>Method</i> | Marcador <i>Marker</i> | Nº pase <i>Passage n.</i> | Resultado | | |
| | | | | Results | Comments | |
| Oct 4 | Inmunocitoquímica | | 6+ | | | |
| Nanog | Inmunocitoquímica | | 6+ | | | |
| Sox 2 | Inmunocitoquímica | | 6 + | | | |
| SSEA3 | | | | | | |
| SSEA4 | Inmunocitoquímica | | 6 + | | | |
| TRA-1-60 | Inmunocitoquímica | | 6+ | | | |
| TRA-1-81 | Inmunocitoquímica | | 6 + | | | |
| Fosfatasa. Alk Activity assay + | | | | | | |
| Test de diferenciación <i>in vitro</i> <i>In vitro differentiation test</i> | Comentarios | | | | | |
| | Método <i>Method</i> | Marcador <i>Marker</i> | Nº pase <i>Passage n.</i> | Resultado | | |
| | | | | Results | Comments | |
| Ectodermo <i>Ectoderm</i> | | | | | | |
| Mesodermo <i>Mesoderm</i> | | | | | | |
| Endoderm <i>Endoderm</i> | | | | | | |
| Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i> (espontánea/inducida) <i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i> | | | | | | |

| Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i> | Comentarios <i>Method</i> | Método <i>Method</i> | Marcador <i>Marker</i> | Nº pase <i>Passage n</i> | Resultado <i>Results</i> | Comments <i>Comments</i> |
|---|---|--|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | | | | | | |
| | Ectodermo <i>Ectoderm</i> | Analisis histológico: neuroepitelio, retina | | + | (Annex) | |
| | Mesodermo <i>Mesoderm</i> | Analisis histológico: estructuras de cartílago, músculo | | + | (Annex) | |
| | Endodermo <i>Endoderm</i> | Analisis histológico: estructuras de epitelio de intestino | | + | (Annex) | |
| Descripción de las características de diferenciación <u>in vivo</u> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i> | Células iPS resuspendidas en medio de cultivo se inyectan subcutáneamente en la espalda de ratón SCID. Tras 8 semanas se forman teratomas de 1 cm de diámetro, se analizan los cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina. iPS cells resuspended in culture medium are injected subcutaneously in SCID mice. After 8 weeks teratomas are formed of 1cm of diameter, excised, fixed and stained by HE. | | | | | |
| Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i> | 46, XY; pase 12/ 46 XY, passage 12 Ver Anexo/ See Annex | | | | | |
| 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> | Si/Yes (Ver Anexo/See Annex) STR markers: D19S572,D2S2159, D17S1533, D14S972, D8S601,D9S1853,D8S1179, D18S51, D2S1338,TH01,D16S539,D19S433,vWA,D21S11 | | | | | |
| Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i> | No aplica/ Does not apply | | | | | |

| | |
|---|---|
| Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i> | Detección de los transgenes introducidos por SeV en el genoma celular Detection of transgenes introduced by SeV in reprogrammed cells' genome RT-PCR (Ver anexo) / RT-PCR (See Annex) |
| 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> | |
| Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i> | Negativo/ negative |

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

| | |
|---|--|
| Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Slaven Erceg Vukicevic | Dirección Postal: <i>Postal address:</i> c/Eduardo Primo Yúfera 3, Valencia 46012 |
| Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe | Teléfono (phone): +963289680 Fax: E-mail: serceg@cipf.es |

SECCIÓN 4

Section 4

INFORMACIÓN ADICIONAL (OPCIONAL)*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):

Ctr1-FiPS4F1 se ha usado en el siguiente articulo con la denominación "Healthy" (Sano):

Ctr1-FiPS4F1 cell line was used in the following article and referred as "Healthy"

Lukovic D, Artero Castro A, Delgado AB, Bernal ML, Luna Pelaez N, Díez Lloret A, Perez Espejo R, Kamenarova K, Fernández Sánchez L, Cuenca N, Cortón M, Avila Fernandez A, Sorkio A, Skottman H, Ayuso C, Erceg S, Bhattacharya SS. Human iPSC derived disease model of MERTK-associated retinitis pigmentosa. Sci Rep. 2015 Aug 11;5:12910. doi: 10.1038/srep12910.

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

Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)

Seguimiento de la línea (a llenar 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) Legal Representative of the Department/Centre)</i> Fecha/ Date: 18 de julio de 2016/ July 18, 2016 | Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Slaven Erceg Vukicevic Fecha /Date 18 de julio de 2016/ July 18, 2016 |
| Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Prof. Don. Enrique Alborch Domínguez | |
| Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe C/ D' Eduardo Primo Yúfera, 3 46012 Valencia | Teléfono /Telephone: ++34 963289680 Fax: E-mail: serceg@cipf.es |

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>  PRINCIPE FELIPE CENTRO DE INVESTIGACIÓN www.cipf.es 18 de julio de 2016/ July 18, 2016 Fecha/ Date: 18 de julio de 2016/ July 18, 2016 | Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Slaven Erceg Vukicevic  Fecha /Date 18 de julio de 2016/ July 18, 2016 |
| Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Prof. Don. Enrique Alborch Domínguez | |
| Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe C/ D' Eduardo Primo Yúfera, 3 46012 Valencia | Teléfono /Telephone: ++34 963289680 Fax: E-mail: serceg@cipf.es |