

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 IPS GENERADA.

Section 1-Information of the original cell line and the generated iPS

Nombre de la línea iPSC Name of the iPSC line:	Rb20235-C5	
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 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.	Fibroblastos de dermis procedentes de biopsia de piel. Dermal fibroblasts from skin biopsy.	
Sexo y edad del donante. Sex and age of the donor	Masculino/ 12	Male/ 12
¿El donante tiene alguna patología? Has the donor any pathological condition?	NO ☐ Sí ☒ (especificar) Síndrome de Brugada/ Brugada No Yes (specify)	
¿La patología es de origen genético? Is the pathological condition of	NO ☐ Sí ☒ (especificar) SCN5A_c.4573G>A , in heterozygosis	

genetic origin?	No Yes (specify)
Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco ☒ <i>Fresh</i> Crioconservado ☐ <i>Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i>	7.03.2017
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	28.08.2017
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 la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 4) Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 4)
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 fibroblastos de un paciente con Síndrome de Brugada, mediante la nucleofección con Amaxa Human Dermal Fibroblast Nucleofector kit (Lonza, #VPD-1001) y vectores episomales con expresión ectópica de 6 factores de transcripción (pCXLE-hOct3/4-shp53-F, Addgene #27077; pCXLE-hSK, Addgene # 27078; pCXLE-hUL, Addgene # 27080). The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from fibroblasts of a patient showing Brugada syndrome, by nucleofection with Amaxa Human Dermal Fibroblast Nucleofector kit (Lonza, #VPD-1001) and episomal vectors with ectopic expression of 6 transcription factors transcripción (pCXLE-hOct3/4-shp53-F, Addgene #27077; pCXLE-hSK, Addgene # 27078; pCXLE-hUL, Addgene # 27080).
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>	Support: Matrigel (Corning BV) Culture medium: mTeSR Basal Medium Kit (StemCell 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(90%) + DMSO(10%), mediante contenedor de isopropanol 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(90%)+ DMSO (10%), by isopropanol container 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? <i>Has the line been genetically modified?</i>	Sí Yes ☐ No No ☒ Especificar: <i>Specify:</i>
--	--

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	inmunocitoq.	16	+	Anexo 1/Annex 1	
	Nanog	inmunocitoq.	16	+		
	Sox 2	inmunocitoq.	16	+		
	SSEA3	inmunocitoq.	16	+		
	SSEA4	inmunocitoq.	16	+		
	TRA-1-60	inmunocitoq.	16	+		
	TRA-1-81	inmunocitoq.	16	+		
	Fosfatasa. Alk actividad		13	+		
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>	inmunocit.	Tuj1/GFAP	14	+	Anexo 2/Annex 2
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocit.	ASMA	14	+	
	Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunocit.	AFP/FOXA2	14	+/+	
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 (p13) (Anexo 3/Annex 3)
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 de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 4) Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 4)
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	El análisis mediante QRT-PCR mostró la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC y en fibroblastos control no-nucleofectados; y presencia de plásmidos en fibroblastos control nucleofectados con GFP tras 72h tras nucleofección (Anexo 5). The absolute quantitative real time PCR showed absence of episomal plasmids in iPSCs and non-nucleofected fibroblasts and presence of plasmids in GFP nucleofected control fibroblasts 72h after nucleofection (Annex 5).
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	La QRT-PCR evidenció la expresión de mRNA de los marcadores endógenos (CDS) y la no expresión de mRNA de los transgenes de reprogramación (Anexo 5). QRT-PCR showed mRNA expression levels of endogenous pluripotency markers (CDS) and no expression of transgenes (pla) (Annex 5).
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	Se muestra el detalle de la mutación que presenta el paciente y que coincide con la observada en la línea de iPSC generada (Anexo 6) The mutation observed in the iPSC lines is identical to the one present in the patient (Annex 6)
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR (Anexo 7) Negative by PCR (Annex 7)

SECCIÓN 3
Section 3

DATOS DEL DEPOSITANTE
Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Ramon Brugada MD PhD, FACC, FESC	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> C/ Dr Castany s/n, Parc Hospitalari Martí i Julià (M-2) 17100, Salt, Girona (Spain)
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Cardiovascular Genetics Center, Gencardio Institut Investigació Biomèdica de Girona (IDIBGI)	Teléfono (phone): 872987087 Fax: E-mail: rbrugada@idibgi.org

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:	Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Marga nadal, Directora	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> C/ Dr Castany s/n, Parc Hospitalari Martí i Julià (M-2) 17190, Salt, Girona (Spain)	Teléfono /Telephone: 872987087 Fax: E-mail: mnadal@idibgi.org

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> Fabiana Scornik, Profesora agregada, Universitat de Girona	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> C/ Dr Castany s/n, Parc Hospitalari Martí i Julià (M-2) 17190, Salt, Girona (Spain)	Teléfono /Telephone: 872987087 Fax: E-mail: fabianasilvia.scornik@udg.edu

(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>