

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: 15-06-2016

DOCUMENTOS QUE DEBEN ACOMPAÑAR LA SOLICITUD:

Attached documents:

X **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

X **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

X **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>	Oex2054SV.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.</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 primarios de un paciente con una atrofia óptica dominante 'plus' asociada a una mutación en heterocigosis en el gen <i>OPA1</i> (c.1861C>T; p.Gln621Ter).
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Hombre desconocida
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO SÍ X (especificar) atrofia óptica dominante 'plus' <i>No Yes (specify)</i>
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO SÍ X (especificar) Es causada por una mutación en heterocigosis en el gen <i>OPA1</i> (ver anexo I). <i>No Yes (specify)</i>

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	<p style="text-align: center;">X Fresco <i>Fresh</i></p> <p style="text-align: center;">Crioconservado <i>Cryopreserved</i></p>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> 01-2016	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> No se congeló. Se expandió y una vez conseguidos stocks se fueron almacenando viales en nitrógeno líquido.
Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	Los fibroblastos se han mantenido en DMEM high glucose con FBS hyclone 10%, Penicilina-Streptomocina 1X y glutamax 1X
¿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>	SI (pase 9)
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>	Metodología no integrativa que implica el uso de virus Sendai (CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit). Se han utilizado los factores de reprogramación Oct3/4, Sox2, Klf4 y cMyc.
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>	Se han seguido las condiciones de cultivo descritas por Raya A et al. Nature protocols 2010; 5(4): 647-60
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>	Las iPSC generadas presentan características morfológicas típicas de células ES (elevada relación núcleo/citoplasma) (Ver ANEXO 1)
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	Se ha seguido el protocolo descrito en el "CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit"

<p>Pase de la línea celular en el momento del banco/registro. (Máximo: Pase 15) <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>Hay iPSCs congeladas en distintos tiempos</p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes <input checked="" type="checkbox"/> No No</p> <p>Comentarios/ Comments:</p>	<p>¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i></p> <p>Sí/ Yes <input checked="" type="checkbox"/> No 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

<p>Test de pluripotencia <i>Pluripotency test</i> Ver ANEXO 1</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Método <i>Method</i></th> <th>Marcador <i>Marker</i></th> <th>Nº pase <i>Passage n.</i></th> <th>Resultado <i>Results</i></th> <th>Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Oct 4</td> <td>RNA/proteína</td> <td></td> <td>20</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nanog</td> <td>RNA/proteína</td> <td></td> <td>20</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sox 2</td> <td>RNA/proteína</td> <td></td> <td>20</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA3</td> <td>Proteína</td> <td></td> <td>20</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA4</td> <td>Proteína</td> <td></td> <td>20</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-60</td> <td>Proteína</td> <td></td> <td>20</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-81</td> <td>Proteína</td> <td></td> <td>20</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fosfatasa. Alk</td> <td>Proteína</td> <td></td> <td>20</td> <td>+</td> <td></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>	Oct 4	RNA/proteína		20	+		Nanog	RNA/proteína		20	+		Sox 2	RNA/proteína		20	+		SSEA3	Proteína		20	+		SSEA4	Proteína		20	+		TRA-1-60	Proteína		20	+		TRA-1-81	Proteína		20	+		Fosfatasa. Alk	Proteína		20	+	
	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																																		
Oct 4	RNA/proteína		20	+																																																			
Nanog	RNA/proteína		20	+																																																			
Sox 2	RNA/proteína		20	+																																																			
SSEA3	Proteína		20	+																																																			
SSEA4	Proteína		20	+																																																			
TRA-1-60	Proteína		20	+																																																			
TRA-1-81	Proteína		20	+																																																			
Fosfatasa. Alk	Proteína		20	+																																																			
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i> Ver ANEXO 1</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Método <i>Method</i></th> <th>Marcador <i>Marker</i></th> <th>Nº pase <i>Passage n</i></th> <th>Resultado <i>Results</i></th> <th>Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td>Proteína</td> <td>TUJ1</td> <td>20</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td>Proteína</td> <td>SMA</td> <td>20</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Endoderm <i>Endoderm</i></td> <td>Proteína</td> <td>AFP</td> <td>20</td> <td>+</td> <td></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>	Proteína	TUJ1	20	+		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Proteína	SMA	20	+		Endoderm <i>Endoderm</i>	Proteína	AFP	20	+																															
	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>	Proteína	TUJ1	20	+																																																			
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Proteína	SMA	20	+																																																			
Endoderm <i>Endoderm</i>	Proteína	AFP	20	+																																																			
<p>Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i> <i>(espontánea/inducida)</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vitro</i> <i>(spontaneous/induced)</i></p>	<p>Espontánea (a las tres capas embrionarias, ver ANEXO 1)</p>																																																						

<p>Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="435 152 754 241">Método</th> <th data-bbox="754 152 914 241">Marcador</th> <th data-bbox="914 152 1074 241">Nº pase</th> <th data-bbox="1074 152 1444 241">Resultado</th> </tr> <tr> <td data-bbox="435 241 754 309">Comentarios</td> <td data-bbox="754 241 914 309"><i>Method</i></td> <td data-bbox="914 241 1074 309"><i>Marker</i></td> <td data-bbox="1074 241 1444 309"><i>Passage n</i></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 309 754 376"></td> <td data-bbox="754 309 914 376"></td> <td data-bbox="914 309 1074 376"></td> <td data-bbox="1074 309 1444 376"><i>Results</i></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 376 754 443"></td> <td data-bbox="754 376 914 443"></td> <td data-bbox="914 376 1074 443"></td> <td data-bbox="1074 376 1444 443"><i>Comments</i></td> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="435 443 754 510">Ectodermo</td> <td data-bbox="754 443 914 510"></td> <td data-bbox="914 443 1074 510"></td> <td data-bbox="1074 443 1444 510"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 510 754 577"><i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="754 510 914 577"></td> <td data-bbox="914 510 1074 577"></td> <td data-bbox="1074 510 1444 577"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 577 754 645">Mesodermo</td> <td data-bbox="754 577 914 645"></td> <td data-bbox="914 577 1074 645"></td> <td data-bbox="1074 577 1444 645"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 645 754 712"><i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="754 645 914 712"></td> <td data-bbox="914 645 1074 712"></td> <td data-bbox="1074 645 1444 712"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 712 754 779">Endodermo</td> <td data-bbox="754 712 914 779"></td> <td data-bbox="914 712 1074 779"></td> <td data-bbox="1074 712 1444 779"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="435 779 754 846"><i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="754 779 914 846"></td> <td data-bbox="914 779 1074 846"></td> <td data-bbox="1074 779 1444 846"></td> </tr> </tbody> </table>	Método	Marcador	Nº pase	Resultado	Comentarios	<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>			
Método	Marcador	Nº pase	Resultado																																						
Comentarios	<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>Pase 20, cariotipo 46, XY Ver ANEXO 1</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>Se ha llevado a cabo análisis de la huella genética por análisis de microsatélites/STR (ver ANEXO 1)</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>Los genes no se integran porque se ha utilizado una metodología NO integrativa (virus Sendai)</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>Mostramos por RT-PCR la eliminación de los vectores y factores de reprogramación exógenos (ver ANEXO 1)</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 ha confirmado la presencia de las mutaciones en la línea de iPSC generada (ver ANEXO 1)</p>
<p>Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i></p>	<p>Las células se han testado una vez al mes para micoplasma y son negativas por PCR.</p>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE
Section 3 Applicant Details

<p>Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Rafael Garesse Alarcón</p>	<p>Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Avda. Arzobispo Morcillo 4</p>
<p>Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols UAM-CSIC, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid</p>	<p>Teléfono (phone): 91-497-54-52 Fax: 91 585-44-01 E-mail: rafael.garesse@uam.es</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

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> José María Sanz Martínez Fecha/ Date: 15-06-2016	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Rafael Garesse Alarcón Fecha /Date 15-06-2016
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> José María Sanz Martínez (Rector UAM)	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> C/. Einstein 3, 28049-Madrid	Teléfono /Telephone: 91-497-40-08 Fax: 91-497-67-55 E-mail: rector@uam.es