

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: A fecha de firma digital

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** PR-03-2020

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 <i>Name of the iPSC line:</i>	BT1-UCiPS4F1
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)	ESi087-A
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>	Células procedentes de orina de un paciente oncológico pediátrico. Urine cells derived from a pediatric oncologic patient.
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino 43 meses de edad Female 43 months old
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Glioma de bajo grado No Yes (specify) Low grade glioma
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) No Yes (specify)

<i>genetic origin?</i>	
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>	31/05/2021
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	31/05/2021
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>	<p>La identidad genética de la células parentales derivadas de orina fue confirmada mediante análisis STR por el servicio de autenticación de líneas celulares de qGenomics (Barcelona, España). Los marcadores analizados en dichas células coinciden con los de las células generadas con pluripotencia inducida (iPSC) (ver anexo 1). Para el ensayo de identificación celular fingerprinting se utilizaron 10 marcadores diferentes.</p> <p>The genetic identity of the urine-derived parental epithelial cells was confirmed by STR analysis using the cell line authentication service from qGenomics (Barcelona, Spain). All analyzed markers in these cells matched those of induced pluripotent stem cells (iPSC) (see Annex 1). Ten different markers were used for the fingerprinting cell identification assay.</p>
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>	<p>Las iPSC fueron generadas usando el sistema de reprogramación no integrativo CytoTune™ -IPS 2.0 Sendai (Cat. A16517, Invitrogen) con la expresión de los factores de transcripción Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc.</p> <p>The iPSC were generated using the non-integrative CytoTune™ -IPS 2.0 Sendai reprogramming system (Cat. A16517, Invitrogen) with the expression of the transcription factors Oct4, Sox2, Klf4 and c-Myc.</p>
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>	<p>Las células fueron cultivadas usando matrigel (como sustrato) y medio de cultivo mTeSR™ Plus (Cat.100-0276, STEMCELL, indicado para el mantenimiento y expansión de iPSC). 37° C, 5% CO2.</p> <p>Cells were cultured using matrigel (as substrate) and mTeSR™ Plus culture medium (Cat. 100-0276, STEMCELL, indicated for maintenance and expansion of iPSC). 37° C, 5% CO2.</p>
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	<p>Las iPSC fueron criopreservadas en medio de cultivo mTeSR™ Plus con 10% DMSO, congeladas en contenedor de isopropanol a -80° C (-1°C/min), y almacenadas en nitrógeno líquido hasta su uso. Para la descongelación, los viales fueron rápida y brevemente expuestos a 37° C.</p> <p>The iPSC were cryopreserved in mTeSR™ Plus culture medium with 10% DMSO, frozen in isopropanol container at -80°C (-1°C/min), and stored in liquid nitrogen until their use. For thawing, the vials were quickly and briefly exposed to 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</i> <i>(Max: Passage 15)</i></p>	<p>Pase 31 Passage 31</p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i></p>	<p>Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Especificar: Specify:</p>

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

<p>Test de pluripotencia <i>Pluripotency test</i></p> <p>Se informará de al menos 5 de los siguientes marcadores</p> <p><i>At least 5 of the following test will be reported</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Método <i>Method</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>ICC/RT-PCR</td> <td>p7 / p5</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nanog</td> <td>RT-PCR</td> <td>p5</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sox 2</td> <td>RT-PCR</td> <td>p5</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA3</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA4</td> <td>ICC/FACS</td> <td>p7 / p12</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-60</td> <td>ICC/FACS</td> <td>p7 / p12</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-81</td> <td>ICC</td> <td>p7</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fosfatasa. Alk</td> <td>Actividad/Activity</td> <td>p6</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="5">Ver Anexo 2 / See annex 2</td> </tr> </tbody> </table>		Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Oct 4	ICC/RT-PCR	p7 / p5	+		Nanog	RT-PCR	p5	+		Sox 2	RT-PCR	p5	+		SSEA3					SSEA4	ICC/FACS	p7 / p12	+		TRA-1-60	ICC/FACS	p7 / p12	+		TRA-1-81	ICC	p7	+		Fosfatasa. Alk	Actividad/Activity	p6	+		Ver Anexo 2 / See annex 2				
	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																															
Oct 4	ICC/RT-PCR	p7 / p5	+																																																
Nanog	RT-PCR	p5	+																																																
Sox 2	RT-PCR	p5	+																																																
SSEA3																																																			
SSEA4	ICC/FACS	p7 / p12	+																																																
TRA-1-60	ICC/FACS	p7 / p12	+																																																
TRA-1-81	ICC	p7	+																																																
Fosfatasa. Alk	Actividad/Activity	p6	+																																																
Ver Anexo 2 / See annex 2																																																			
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p> <p>Cuerpos embrioides <i>Embryoid bodies</i></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>ICC</td> <td>Nestin</td> <td>p12</td> <td>+</td> <td>Anexo/Annex 3</td> </tr> <tr> <td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td>ICC</td> <td>SMA</td> <td>p12</td> <td>+</td> <td>Anexo/Annex 3</td> </tr> <tr> <td>Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td>ICC</td> <td>AFP</td> <td>p13</td> <td>+</td> <td>Anexo/Annex 3</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>	ICC	Nestin	p12	+	Anexo/Annex 3	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	ICC	SMA	p12	+	Anexo/Annex 3	Endodermo <i>Endoderm</i>	ICC	AFP	p13	+	Anexo/Annex 3																										
	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>	ICC	Nestin	p12	+	Anexo/Annex 3																																														
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	ICC	SMA	p12	+	Anexo/Annex 3																																														
Endodermo <i>Endoderm</i>	ICC	AFP	p13	+	Anexo/Annex 3																																														
<p>Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i></p> <p>Teratomas <i>Teratomas</i></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></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></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>						Mesodermo <i>Mesoderm</i>						Endodermo <i>Endoderm</i>																															
	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>																																																			
Mesodermo <i>Mesoderm</i>																																																			
Endodermo <i>Endoderm</i>																																																			

Cariotipo (pase) <i>Karyotype (passage)</i>	<p>46, XX (Ver anexo 4), pase 10</p> <p>46, XX (See annex 4), passage 10</p>
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	<p>La identidad genética de las iPSC fue confirmada mediante análisis STR por el servicio de autenticación de líneas celulares de qGenomics (Barcelona, España). Los marcadores analizados en dichas células coinciden con los de las células parentales (ver anexo 1). Para el ensayo de identificación celular fingerprinting se utilizaron 10 marcadores diferentes.</p> <p>The genetic identity of the iPS cells was confirmed by STR analysis by the cell line authentication service from qGenomics (Barcelona, Spain). All the analyzed markers in these cells matched those the parental cells (see Annex 1). Ten different markers were used for the fingerprinting cell identification assay.</p>
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	<p>No procede, debido a que se ha utilizado una metodología de reprogramación no integrativa.</p> <p>Not applicable, due to the use of a non-integrative reprogramming methodology.</p>
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	<p>Mediante PCR y usando primers específicos, demostramos la ausencia del vector viral Sendai (ver Anexo 5).</p> <p>Using PCR and specific primers, we demonstrated the absence of the Sendai viral vector (see Annex 5).</p>
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	<p>No procede</p> <p>Not applicable</p>
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	<p>Negativo por PCR (ver Anexo 6)</p> <p>Negative by PCR (see Annex 6)</p>

SECCIÓN 3*Section 3***DATOS DEL DEPOSITANTE***Applicant Details*

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Vivian Capilla-González	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Av. Americo Vespucio 24, 41092, Sevilla
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER) 41092 - Sevilla, SPAIN.	Teléfono (phone): 954 468 004 Fax: E-mail: vivian.capilla@cabimer.es

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

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>	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> Gonzalo Balbontín Casillas	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Fundación Progreso y Salud Av. Américo Vespucio #15 41092 - Sevilla	Teléfono /Telephone: 955 040 450 Fax: E-mail: fundacion.progreso.salud@juntadeandalucia.es

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> Investigador principal/Principal Investigator: Vivian Capilla-González	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER) Av. Américo Vespucio #24 41092 - Sevilla	Teléfono /Telephone: 954 468 004 Fax: E-mail: vivian.capilla@cabimer.es

(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>