

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 to Deposit a human iPS cell line

FECHA: 08.04.2019

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 from 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>	BST PBiPS1-SV4F-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 <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>	Células mononucleadas de sangre periférica <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino, 52 años Female, 52 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> No SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> No SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) Yes (specify)

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Fresco <input type="checkbox"/> Crioconservado <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> 26.09.2017	Fecha del uso o descongelación (si congelado) <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 26.09.2017
Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	Medio de cultivo/ Culture media: IMDM + 10%FBS + 0,5% Penicilin-Streptomycin (Gibco, InVitrogen corporation). 37°C- 5%CO2
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the original cells.</i>	Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5) <i>Microsatellite markers of the initial sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 5)</i>
¿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
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 de pluripotencia inducida (iPSC) a partir de células mononucleadas de sangre periférica de un donante con fenotipo Vel negativo (mutación SMIM*64-80 del), con el kit de reprogramación CytoTune®-iPS 2.0 Sendai, un sistema no integrativo que utiliza vectores del virus Sendai. Este kit incluye tres vectores: policistrónico Klf4-hOct3/4-Sox2, cMyc y Klf4. <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from Peripheral Blood Mononuclear Cells from a donor with Vel negative phenotype (SMIM*64_80 del mutation) generated with the CytoTune®-iPS 2.0 Sendai Reprogramming Kit, a non-integrating system that uses Sendai virus vectors. This kit includes three vector preparations: polycistronic Klf4-Oct3/4-Sox2, cMyc, and Klf4.</i>
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>	Support: human foreskin fibroblasts (ATCC, American Type Culture Collection, CCD1112Sk), γ -irradiated. 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). Support: Matrigel (Corning BV) Culture medium: mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies)
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</i>	Colonias grandes poligonales, ligeramente aplanas, 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. <i>Large and flat polygonal colonies, with uniformly sized cells of 1-3 mm of</i>

<p><i>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><i>diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i></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><i>The clumps of colonies were cryopreserved in FBS (90%)+ DMSO (10%), by programmable freezer (-0.5°C/min.)or in isopropanol containers at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.</i></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>Viales congelados a pases 3-9 Frozen vials at passages 3-9</p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></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 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 Pluripotency test	Método Method	Nº pase Passage n.	Resultado Results	Comentarios Comments	
Anexo 1 Annex 1	Oct 4 inmunocitoq.	6	+		
	Nanog inmunocitoq.	6	+		
	Sox 2 inmunocitoq.	6	+		
	SSEA3 inmunocitoq.	6	+		
	SSEA4 inmunocitoq.	6	+		
	TRA-1-60 inmunocitoq.	6	+		
	TRA-1-81 inmunocitoq.	6	+		
	Fosfatasa. Alk actividad	6	+		
Test de diferenciación in vitro In vitro differentiation test	Comentarios <i>Method</i>	Método Method <i>Marker</i>	Nº pase Passage n	Resultado Results	
	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq.	Tuj1	7	+
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq.	ASMA, ASA	7	+/+
	Endoderm <i>Endoderm</i>	inmunocitoq.	AFP, FOXA2	7	+/+
	Mesodermo: cultivo de cuerpos embrioides (EBs) en medio de cultivo suplementado con ácido ascórbico. Endodermo: cultivo de cuerpos embrioides. Ectodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio N2/B27 (ver Anexo 2). <i>Mesoderm: Embryoid bodies (EBs) cultured in culture medium supplemented with ascorbic acid. Endoderm: EBs culture. Ectoderm: EBs culture in N2/B27 (see Annex 2).</i>				

Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	Método Comentarios <i>Method</i> <i>Comments</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	
		Ectodermo inmunohist. MAP2, GFAP <i>Ectoderm</i>	12	+/-	
		Mesodermo inmunohist. ASMA, ASA <i>Mesoderm</i>	12	+/-	
		Endodermo inmunohist. AFP, FOXA2 <i>Endoderm</i>	12	+/-	
Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	<p>Inyección intratesticular en ratones SCID de 4·10 mill de células indiferenciadas y tras 8 semanas, análisis de los teratomas producidos mediante técnicas de inmunohistoquímica para ectodermo, mesodermo y endodermo (Anexo 3).</p> <p><i>4·10 mill of undifferentiated cells were injected into the testis of SCID mice. After 8 weeks, teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm (Annex 3).</i></p>				
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	46, XX; p7				
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>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 5)</i></p>				
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	<p>No procede, debido a que se trata un método no-integrativo</p> <p><i>Not applicable, due to non-integrating reprogramming methodology.</i></p>				
Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	<p>El análisis mediante q-RT-PCR mostró la ausencia de mRNA derivado de virus Sendai en la línea de iPSC y la presencia de mRNA derivado de virus Sendai en células control tras 1 semana de transducción (Anexo 6).</p> <p><i>The q-RT-PCR showed absence of Sendai virus derived mRNAs in iPSCs and presence of Sendai virus derived mRNAs in virus transduced control cells 1 week after transduction (Annex 6).</i></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>	No procede <i>Not applicable</i>
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR (Anexo 7) <i>Negative by PCR (Annex 7)</i>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Bigas	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques:</i>	Teléfono (phone): 933160440 Fax: E-mail: anna.bigas1@gmail.com

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Núria Nogués	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Pg. Taulat, 116 08005 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Banc de Sang i Teixits	Teléfono (phone): 9305573500 Fax: E-mail: nnogues@bst.cat

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Veiga Lluch	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Hospital Duran i Reynals. Gran Vía de l'Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB)	Teléfono (phone): 93 3160360 Fax: E-mail: blc@cmrb.eu

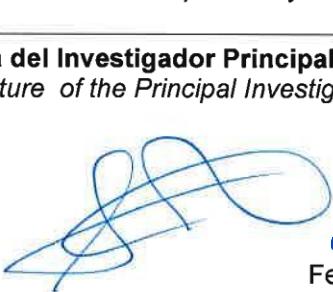
SECCIÓN 4
Section 4

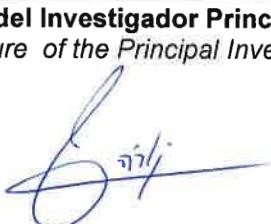
INFORMACIÓN ADICIONAL (OPCIONAL)
Additional information (optional)

SECCIÓN 5 DECLARACIÓN

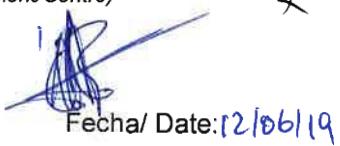
Confirmo que la información contenida en estos impresos es cierta y asumo total responsabilidad sobre la misma.

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 <small>(Representante legal del Departamento/Centro) Legal Representative of the Department/Centre)</small>  Fecha/ Date: 13/5/2015	Firma del Investigador Principal <small>Signature of the Principal Investigator</small>  6/5/2015 Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: Name and Position of the Person Representing the Centre: Joaquim Bellmunt Molins	
Dirección Postal: Postal Address: Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona	Teléfono /Telephone: 933160780 Fax: 933160572 E-mail: jbellmunt@imim.es

Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre <small>(Representante legal del Departamento/Centro) Legal Representative of the Department/Centre)</small>  Fecha/ Date:	Firma del Investigador Principal <small>Signature of the Principal Investigator</small>  28/5/2019 Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: Banc de Sang i Teixits Name and Position of the Person Representing the Centre: Enric Argelagüés Vidal. Director General	
Dirección Postal: Postal Address: Edifici Dr. Frederic Duran i Jordà Passeig Taulat, 106-116 08005 Barcelona	Teléfono /Telephone: 93 5573522 Fax: E-mail: eargelagues@bst.cat

Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre
(Representante legal del Departamento/Centro)
Legal Representative of the Department/Centre)



12/06/19
Fecha/ Date:

Firma del Investigador Principal
Signature of the Principal Investigator



13.VI.19.

Fecha /Date

Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:

Name and Position of the Person Representing the Centre:

Angel Raya. Director

Dirección Postal:

Postal Address:

Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l' Hospitalet
199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona

Teléfono /Telephone: 93 3160320

Fax:

E-mail: gerencia@cmrb.eu