

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: 17/12/2018

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>	RP2_FiPS4F2.2
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>	Fibroblastos de dermis procedentes de biopsia de piel Dermal fibroblasts from skin biopsy
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino, 63 años Female, 63 years old
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO ☐ SÍ ☒ (especificar) Retinitis pigmentosa <i>No Yes (specify)</i>
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO ☐ SÍ ☒ (especificar) Dos mutaciones en heterocigosis compuesta en el gen USH2A: Two mutations in compound heterozygosis in USH2A gene: c.2209C>T, p.Arg737Ter c.8693A>C, p.Tyr2898Ser

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>	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> Julio 2017 July 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>	DMEM, 10% FBS, 1X Penicilina/Estreptomycin DMEM, 10%FBS, 1X Penicillin/Streptomycin 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 microsatélite analizados en los fibroblastos coinciden con los de la línea iPS generada (ver Anexo). Para el ensayo de identificación celular DNA fingerprinting se han utilizado 16 marcadores diferentes Microsatellite markers analyzed in the fibroblasts match the ones obtained from the generated iPS line (see Annex). For the DNA fingerprinting assay we used 16 different markers
¿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, pases 2, 3 y 5 Yes, passages 2, 3 and 5
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) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	Método no integrativo. Virus Sendai (CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming Kit, Thermo Fisher Scientific). Se han usado los factores de reprogramación: Oct3/4, Sox2, Klf4 y cMyc Non integrative methodology. Sendai virus (CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit, Thermo Fisher Scientific). Reprogramming factors used: Oct3/4, Sox2, Klf4 and 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>	Soporte/Support: CF1 Mouse Embryonic Fibroblasts, irradiated (Gibco) Medio de cultivo /Culture media: DMEM-F12 (Gibco), 20% knockout serum replacement (Gibco), 1% non-essential amino acids (Gibco), 1% penicillin/streptomycin (Gibco), 1% glutamine (Gibco), 0.1% b-Mercaptoethanol (Gibco), 10 ug/ml (R&D Systems) Soporte/Support: Matrigel (Corning BV) Medio de cultivo/Culture media: mTESR Basal Medium kit (Stemcell Technologies), 1% penicillin/streptomycin (Gibco)
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</i>	Colonias grandes poligonales, bien definidas, ratio nucleo/citoplasma elevada, nucleolos prominentes Large polygonal colonies, well-defined, high nucleus/cytoplasm ratio, prominent nucleoli

culture (form and size of the colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)	
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	Congelación: 50% medio, 40% FBS, 10% DMSO en contenedor de isopropanol at -80°C (-1°C/min) Descongelación: 37°C Freezing: 50% media, 40% FBS, 10% DMSO by isopropanol container at -80°C (-1°C/min) Thawing: 37°C
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>	Pase 11 Passage 11
¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes ☐ No No ☒ Comentarios/ Comments:	¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i> Sí/ Yes ☐ No ☒ Resultado / Result

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>	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	
	Oct 4	ICC/Flow cytometry	10	+	
	Nanog	ICC/Flow cytometry	10	+	
	Sox 2	ICC	10	+	
	SSEA3	ICC	13	+	
	SSEA4	Flow cytometry	10	+	
	TRA-1-60	ICC	13	+	
	TRA-1-81	ICC	13	+	
	Fosfatasa. Alk	In vivo	12	+	
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>
	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	ICC	OTX2	11	+
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	ICC	Brachyury	11	+
	Endoderm <i>Endoderm</i>	ICC	SOX17	11	+
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>	La diferenciación in vitro se ha llevado a cabo siguiendo las instrucciones del Human Pluripotent Stem Cell Functional Identification kit (R&D Systems) In vitro differentiation has been performed following the manufacturer's instructions, Human Pluripotent Stem Cell Functional Identification kit (R&D Systems)				

Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>						
	Comentarios	Método	Marcador	Nº pase	Resultado	
		<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>					
Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	No se ha llevado a cabo por ser un ensayo que actualmente ya no se considera necesario para demostrar la pluripotencialidad de las células This assay has not been carried out as it is no longer considered essential to demonstrate the pluripotency potential of the cells					
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	46, XX p5 46, XX p13					
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>	Los marcadores de microsatélite analizados en los fibroblastos coinciden con los de la línea iPS generada (ver Anexo). Para el ensayo de identificación celular DNA fingerprinting se han utilizado 16 marcadores diferentes Microsatellite markers analyzed in the fibroblasts match the ones obtained from the generated iPS line (see Annex). For the DNA fingerprinting assay we used 16 different markers					
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	Método no integrativo Non-integrative method					

Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	Se analizó la eliminación de los vectores y factores de reprogramación exógenos por RT-PCR We confirmed the clearance of the vectors and the exogenous reprogramming factor genes by RT-PCR
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>	Las mutaciones se han comprobado en las células IPS mediante secuenciación Sanger The presence of the mutations in the iPSC was evaluated and confirmed by Sanger sequencing c.2209C>T/c.8693A>C (USH2A)
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR Negative by PCR

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Esther Pomares/Marina Riera	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> C/ Josep M ^a Lladó, 3 08035 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Fundació de Recerca de l'Institut de Microcirurgia Ocular	Teléfono (phone): 932531501 Fax: 93 417 13 01 E-mail: pomares@imo.es/genetica.riera@imo.es

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)

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 Luis Güell  17/12/18 Fecha/ Date:	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Esther Pomares Marina Riera   17/12/2018 Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> José Luis Güell, presidente de la Fundació de Recerca de l'Institut de Microcirurgia Ocular José Luis Güell, president of IMO Foundation	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> C/ Josep M ^a Lladó, 3 08035 Barcelona	Teléfono /Telephone: 932531501 Fax: 934171301 E-mail: coordinacion@fundacionimo.org