

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: 10/3/2017

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>	[SWB]FiPS1-R4F-5	
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 de dermis procedentes de biopsia de piel. <i>Dermal fibroblasts from skin biopsy.</i>	
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino/Female	15 años/ 15 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO ☐ <i>No</i>	SÍ ☒ (especificar) Williams-Beuren's syndrome <i>Yes (specify)</i>
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO ☐ <i>No</i>	SÍ ☒ (especificar) 7q.11.23 deletion <i>Yes (specify)</i>

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> 11.02.2013	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 2.2013
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 de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5) <i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than 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>	Si, 10 viales en p2 Yes, 10 vials at p2
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 los fibroblastos de un paciente que presenta la deletion 7q.11.23 mediante la estrategia retroviral con expresión ectópica de 4 factores de transcripción (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc). Mediante el uso de un plásmido retroviral (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) y un constructo tricistrónico (pMXsKLF4 MYCGFP) <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from fibroblasts of a patient showing 7q.11.23, by the retroviral strategy with ectopic expression of 4 transcription factors (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc), using the retroviral plasmid (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) and a tricistronic constructor (pMXsKLF4 MYCGFP).</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, CCD112Sk). 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 characteristics of the line in culture (form and size of the colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</i>	Colonias grandes poligonales, ligeramente aplanadas, 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 diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i>
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 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. <i>The clumps of colonies were cryopreserved in FBS(90%)+ DMSO (10%), by programmable freezer (-0.5°C/min.) or by isopropanol container at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.</i>
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>	p59-60
¿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> Anexo 1 <i>Annex 1</i>	Método <i>Method</i>		Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>
	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 <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>	inmunocitoq.	Tuj1/GFAP		+ / +	
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq.	ASMA		+	
Endoderm <i>Endoderm</i>	inmunocitoq.	AFP/ FOXA2		+ / +	
Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i> <i>(espontánea/inducida)</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i>	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>	<table><tr><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><tr><td>Ectodermo <i>Ectoderm</i></td><td>inmunocitoq. Tuj1/GFAP</td><td>61</td><td>+ / +</td><td></td></tr><tr><td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td><td>inmunocitoq. ASMA</td><td>61</td><td>+</td><td></td></tr><tr><td>Endodermo <i>Endoderm</i></td><td>inmunocitoq. AFP/ FOXA2</td><td>61</td><td>+ / +</td><td></td></tr></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>	inmunocitoq. Tuj1/GFAP	61	+ / +		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA	61	+		Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunocitoq. AFP/ FOXA2	61	+ / +	
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>	inmunocitoq. Tuj1/GFAP	61	+ / +																		
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA	61	+																		
Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunocitoq. AFP/ FOXA2	61	+ / +																		
Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	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). <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>																				
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	46 XX, p61 (Anexo4) (Annex 4)																				
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 microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5) <i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are indentical than the markers of the iPS line (Annex 5)</i>																				
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	La PCR evidenció la integración de los 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc. (Anexo 6) <i>Integration of the 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc was shown by PCR (Annex 6)</i>																				

Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	Se evidenció el silenciamiento de los 4 genes de reprogramación: Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc mediante qRT-PCR (Anexo 6) <i>Silencing of reprogramming genes Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc has been shown by qRT-PCR (Annex 6)</i>
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>	Se presenta el detalle de la delección intersticial identificada en la banda 7q11.23 que coincide con la microdelección que presenta el paciente y que se ha descrito en la literatura como causante del Síndrome de Williams-Beuren (Anexo 7). <i>Deletion in the band 7q11.23 has shown. This deletion is identical to the one present in the patient and has been described in literature as the cause of William-Beuren Syndrome (Annex 7).</i>
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR (Anexo 8) <i>Negative by PCR (Annex 8)</i>

SECCIÓN 3 Section 3

DATOS DEL DEPOSITANTE Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Veiga Lluch	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> CMRB Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB)	Teléfono (phone): 933160360 Fax: 933160301 E-mail: blc@cmrb.eu

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Ivón Cuscó Martí	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Universitat Pompeu Fabra Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Universitat Pompeu Fabra	Teléfono (phone): 933160855 Fax: 933160901 E-mail: ivon.cusco@upf.edu

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):

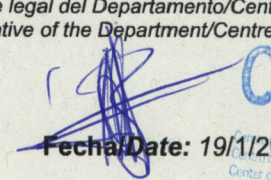
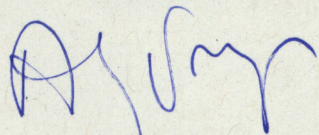
Otras observaciones o información relevantes (a rellenar por el BNLC):
Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)

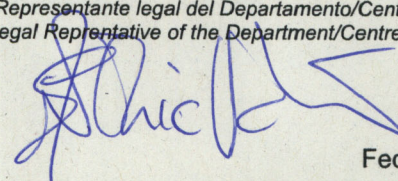
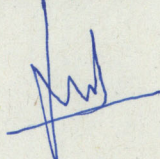
Seguimiento de la línea (a rellenar por el BNLC):
Follow up of the line (to be completed by BNLC)

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 (Representante legal del Departamento/Centro) Legal Representative of the Department/Centre  Fecha/Date: 19/1/2017 	Firma del Investigador Principal Signature of the Principal Investigator  Fecha/Date: 19/1/2017
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: Name and Position of the Person Representing the Centre: Ángel Raya Chamorro, Director	
Dirección Postal: Postal Address: Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona Doctor Aiguader, 88, 7ª planta, 08003, Barcelona	Teléfono /Telephone: 933160303 Fax: 933160301 E-mail: gerencia@cmrb.eu

Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre (Representante legal del Departamento/Centro) Legal Representative of the Department/Centre  Fecha/Date: 8/1/17	Firma del Investigador Principal Signature of the Principal Investigator  Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: Name and Position of the Person Representing the Centre: Enric Vallduví, Vicerrector de Investigación y Doctorado	
Dirección Postal: Postal Address: Universitat Pompeu Fabra Departament de Ciències Experimentals i de la Salut Unitat de Genètica Doctor Aiguader 88, 08003, Barcelona	Teléfono /Telephone: Fax: E-mail: