

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:

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**

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>	NF1(-/-) edited FiPS Ctrl1-SV4F-7 alias NF1_C
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (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. 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>	FiPS Ctrl1-SV4F-7, que procede de fibroblastos de prepucio FiPS Ctrl1-SV4F-7 coming from foreskin fibroblasts.
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Masculino, 9 años Male, 9 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO ☒ SÍ ☐ (especificar) No Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO ☒ SÍ ☐ (especificar) No Yes (specify)

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco ☒ Crioconservado ☐ <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i>	30.04.2014
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	22.01.2015
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>	Los marcadores de microsatélites de las células de la muestra de fibroblastos inicial coinciden con los de la línea de iPS de origen y los de la línea de iPSC editada Microsatellite markers of the fibroblasts sample are identical to the markers of the original iPS line and the edited iPSC line
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 fibroblastos de un donante sano 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. The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from fibroblasts from a healthy donor 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.
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>	Support: Matrigel (Corning BV) Culture medium: mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies)
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 contenedor de isopropanol a -80°C (-1°C/min). Los viales se han descongelado a 37°C mediante descongelación rápida. The clumps of colonies were cryopreserved in FBS (90%)+ DMSO (10%), p17 in isopropanol containers at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 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>	p66+8
¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i>	Sí Yes ☒ No No ☐ Especificar: Gen NF1 editado mediante la tecnología CRSPR/Cas9. <i>Specify:</i>

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

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>	
Se informará de al menos 5 de los siguientes marcadores <i>At least 5 of the following test will be reported</i>	Oct 4	Inmunocit.	p66+7	+	Anexo / Annex	
	Nanog	Inmunocit.	p66+7	+		
	Sox 2	Inmunocit.	p66+7	+		
	SSEA3	Inmunocit.	p66+7	+		
	SSEA4	Inmunocit.	p66+7	+		
	TRA-1-60	Inmunocit.	p66+7	+		
	TRA-1-81	Inmunocit.	p66+7	+		
	Fosfatasa. Alk	actividad	p66+7	+		
Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i>	Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>
Cuerpos embrioides <i>Embryoid bodies</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunocit.	Tuji1/GFAP	p66+6	+/+	Anexo /Annex
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocit.	ASMA/GATA4	p66+6	+/+	
	Endoderm <i>Endoderm</i>	inmunocit.	AFP/FOXA2	p66+6	+/+	
Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>
Teratomas <i>Teratomas</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>					
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>					
	Endodermo <i>Endoderm</i>					

Cariotipo (pase) <i>Karyotype (passage)</i>	46, XY (p66+8)
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR/ otros marcadores de la línea celular/ <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR/ other cell line markers</i>	Los marcadores de microsatélites de las células de la muestra de fibroblastos inicial coinciden con los de la línea de iPS de origen y los de la línea de iPSC editada Microsatellite markers of the fibroblasts sample are identical to the markers of the original iPS line and the edited iPSC line
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	No procede, debido a que se trata un método no-integrativo Not applicable, due to non-integrating reprogramming methodology
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	Se realizó qPCR para detectar la ausencia del SeV y de los transgenes de reprogramación en la iPSC original qPCR to detect the absence of SeV genome and reprogramming transgenes was done in the original line
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	Las mutaciones en el exón 2 del gen NF1 se confirmaron en los dos alelos del gen mediante clonación de los alelos y secuenciación sanger. El alelo 1 tiene una delección de 7 pares de bases en la posición g.66040-66046del y el alelo 2 tienen una delección de 4 pares de bases en la posición g.66048-66051del. Ambas mutaciones generan rotura de la pauta de lectura. Ver Figura S2 del artículo adjunto.
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> Eduard Serra Arenas	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Ctra. Can Ruti, camí escoles s/n 08916 Badalona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Institut de Recerca Germans Trias i Pujol (IGTP)	Teléfono (phone): (+34) 93 554 3067 Fax: (+34) 93 554 3067 E-mail: eserra@igtp.cat

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

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> Dr. Jordi Barretina Ginesta Fecha/ Date: 21/09/2023	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Dr. Eduard Serra Arenas Fecha /Date 21/09/2023
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Dr. Jordi Barretina Ginesta Director IGTP	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Institut de Recerca Germans Trias i Pujol (IGTP) Carretera de Can Ruti, camí de les escoles s/n 08916 Badalona Barcelona	Teléfono /Telephone: 934978655 Fax: 934978654 E-mail: igtp@igtp.cat

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> Dr. Eduard Serra Arenas Fecha/ Date: 21/09/2023	
Nombre y Cargo del responsable de la generación: <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Dr. Eduard Serra Arenas, Investigador IGTP	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Institut de Recerca Germans Trias i Pujol (IGTP) Carretera de Can Ruti, camí de les escoles s/n 08916 Badalona Barcelona	Teléfono /Telephone: 935543067 Fax: 934978654 E-mail: eserra@igtp.cat

(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>