

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: 20/11/2023

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** 10/2022

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>	RP25_UiPSC_mR5F_8 RP25_UiPSC_mR5F_8
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)	VHIRi003-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>	Muestra original: Células de orina desprendidas a lo largo del tracto urinario. Original sample: urine cells detached along the urinary tract.
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Mujer 63 años Female 63 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO ☐ SÍ ☒ (especificar) Retinitis Pigmentosa 25 (RP25)/Retinosis Pigmentaria 25 (RP25) No Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of</i>	NO ☐ SÍ ☒ (especificar) Mutación en homocigosis el gen EYS c.8834G>A (cDNA); p.Gly2945Glu (proteína) / Homocigosis mutation in

genetic origin?	EYS gene c.8834G>A (cDNA); p.Gly2945Glu (protein) No Yes (specify)
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>	22/03/2022
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	30/06/2023
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>	Se realizó el análisis de la huella genética mediante microsatélites hallándose identidad entre la muestra de células de orina procedente de las células primarias de la paciente y la muestra de hiPSC generada. The genetic fingerprint analysis was performed using microsatellites, finding identity between the urine cell sample from the patient's primary cells and the hiPSC sample generated.
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 células madre pluripotentes inducidas (hiPSC) a partir de células de orina mediante el método no integrativo de reprogramación por mRNA usando el kit "Stemgent® StemRNA™ 3rd Gen Reprogramming Kit for Reprogramming Urine- Derived Progenitor Cells (UPCs)" (Reprocell, Cat. No. 00-0076) Generation of induced pluripotent stem cells (hiPSC) from urine cells with the non-integrative mRNA reprogramming method using the "Stemgent® StemRNA™ 3rd Gen Reprogramming Kit for Reprogramming Urine- Derived Progenitor Cells (UPCs)" (Reprocell, Cat. No. 00-0076).
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>	Condiciones de cultivo hiPSC: medio de cultivo - mTeSr (StemCell Technologies), matriz de soporte - Matrigel (Corning). Las células hiPSC se mantuvieron en cultivo con medio mTeSr i matriz de Matrigel realizando un pase manual con EDTA de una vez por semana de ratio 1:6. Culture conditions hiPSC: culture medium - mTeSr (StemCell Technologies), support matrix - Matrigel (Corning). hiPSC cells were maintained in culture with mTeSr medium and Matrigel matrix by manual passage with EDTA once a week at a 1:6 ratio.
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 grados (1grado/min) y posteriormente se han preservado en tanques de nitrógeno líquido. Los viales se han descongelado a 37 grados mediante descongelación rápida. Freezing of colony clumps was performed in FBS(90%) + DMSO(10%), by isopropanol container at -80 degrees (1 degree/min) and then preserved in liquid nitrogen tanks. The vials were thawed at 37 degrees by rapid thawing.
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>	p11

¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i>	Sí Yes ☐ No No ☒ Especificar: - <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	Immunocitoq.	p5	+	Annex 2	
		PCR	p5	+	Annex 2	
	Nanog	Immunocitoq.			Annex 2	
		PCR	p5	+	Annex 2	
	Sox 2	-				
	SSEA3	Immunocitoq.	p5	+	Annex 2	
	SSEA4	Immunocitoq.	p5	+	Annex 2	
	TRA-1-60	-				
	TRA-1-81	Immunocitoq.	p5	+	Annex 2	
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>	
Cuerpos embrioides <i>Embryoid bodies</i>	Ectodermo	Immunocitoq.	PAX6	13	+	Annex 3
		Immunocitoq.	TUJ1	13	+	Annex 3
	Ectoderm					
	Mesodermo	Immunocitoq.	ASA	13	+	Annex 3
	Mesoderm					
	Endoderm	Immunocitoq.	AFP	13	+	Annex 3
		Immunocitoq.	SOX17	13	+	Annex 3
	Endoderm					
Test de diferenciación in vivo <i>In vivo 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>	
Teratomas <i>Teratomas</i>	Ectodermo	-				
	Ectoderm					
	Mesodermo	-				
	Mesoderm					
	Endodermo	-				
	Endoderm					

Cariotipo (pase) <i>Karyotype (passage)</i>	46, XX (Anexo 4/ Annex 4) p5
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	Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de células de orina coinciden con la línea hiPSC generada (Anexo 5). Microsatellite markers from the initial urine cell sample matched the generated hiPSC line (Appendix 5).
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	No
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR Negative by PCR

SECCIÓN 3
Section 3

DATOS DEL DEPOSITANTE
Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> José García Arumí	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Passeig de la Vall d'Hebron 119-129 Edificio Col·labora Laboratori 148b
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Vall d'Hebron institute of Research (VHIR)	Teléfono (phone): 93489474 Fax: - E-mail: anna.duarri@vhir.org

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> Isabel Novoa Fecha/ Date: 18/12/2023	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Jose Garcá Arumí Fecha /Date 20/11/2023
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Directora del Biobanco	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Vall d'Hebron Institut de Recerca Passeig Vall d'Hebron 119-129. 08036, Barcelona	Teléfono /Telephone: 93-2746000 ext 4842 Fax: E-mail: Isabel.novoa@vhir.org

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> Anna Duarri Fecha/ Date: 20/11/2023	
Nombre y Cargo del responsable de la generación: <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Investigador	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Ophthalmology Research Group Lab 148b, Ed. Collserola Vall d'Hebron Institut de Recerca Passeig Vall d'Hebron 119-129. 08036, Barcelona	Teléfono /Telephone: +34 934894174 Fax: E-mail: anna.duarri@vhir.org

(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>