

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: 15-06-2016

DOCUMENTOS QUE DEBEN ACOMPAÑAR LA SOLICITUD:

Attached documents:

X 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

X 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

X 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>	Oex2054SV.4	
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 primarios de un paciente con una atrofia óptica dominante 'plus' asociada a una mutación en heterocigosis en el gen <i>OPA1</i> (c.1861C>T; p.Gln621Ter).	
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Hombre desconocida	
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO No	SÍ X (especificar) atrofia óptica dominante 'plus' Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO No	SÍ X (especificar) Es causada por una mutación en heterocigosis en el gen <i>OPA1</i> (ver anexo I). Yes (specify)

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	X 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> 01-2016	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> No se congeló. Se expandió y una vez conseguidos stocks se fueron almacenando viales en nitrógeno líquido.
Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	Los fibroblastos se han mantenido en DMEM high glucose con FBS hyclone 10%, Penicilina-Streptomycin 1X y glutamax 1X
¿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 (pase 9)
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>	Metodología no integrativa que implica el uso de virus Sendai (CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit). Se han utilizado los factores de reprogramación Oct3/4, Sox2, Klf4 y 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>	Se han seguido las condiciones de cultivo descritas por Raya A et al. Nature protocols 2010; 5(4): 647-60
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>	Las iPSC generadas presentan características morfológicas típicas de células ES (elevada relación núcleo/citoplasma) (Ver ANEXO 1)
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	Se ha seguido el protocolo descrito en el "CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit"

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>	Hay iPSCs congeladas en distintos tiempos
¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes x No No Comentarios/ Comments:	¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i> Sí/ Yes x 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> Ver ANEXO 1	Método	Marcador	Nº pase	Resultado	
	Comentarios				
	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n.</i>	<i>Results</i>	<i>Comments</i>
	Oct 4	RNA/proteína	20	+	
	Nanog	RNA/proteína	20	+	
	Sox 2	RNA/proteína	20	+	
	SSEA3	Proteína	20	+	
	SSEA4	Proteína	20	+	
	TRA-1-60	Proteína	20	+	
	TRA-1-81	Proteína	20	+	
	Fosfatasa. Alk	Proteína	20	+	
Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i> Ver ANEXO 1	Método	Marcador	Nº pase	Resultado	
	Comentarios				
	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n</i>	<i>Results</i>	<i>Comments</i>
	Ectodermo	Proteína	TUJ1	20	+
	<i>Ectoderm</i>				
	Mesodermo	Proteína	SMA	20	+
	<i>Mesoderm</i>				
	Endoderm	Proteína	AFP	20	+
	<i>Endoderm</i>				
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>	Espontánea (a las tres capas embrionarias, ver ANEXO 1)				

Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	<table><tr><th>Comentarios</th><th>Método</th><th>Marcador</th><th>Nº pase</th><th>Resultado</th><th></th></tr><tr><td></td><td><i>Method</i></td><td><i>Marker</i></td><td><i>Passage n</i></td><td><i>Results</i></td><td><i>Comments</i></td></tr><tr><td>Ectodermo <i>Ectoderm</i></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Endodermo <i>Endoderm</i></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>	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>					
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>																															
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	Pase 20, cariotipo 46, XY Ver ANEXO 1																														
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>	Se ha llevado a cabo análisis de la huella genética por análisis de microsatélites/STR (ver ANEXO 1)																														
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	Los genes no se integran porque se ha utilizado una metodología NO integrativa (virus Sendai)																														

Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	Mostramos por RT-PCR la eliminación de los vectores y factores de reprogramación exógenos (ver ANEXO 1)
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 ha confirmado la presencia de las mutaciones en la línea de iPSC generada (ver ANEXO 1)
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Las células se han testado una vez al mes para micoplasma y son negativas por PCR.

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Rafael Garesse Alarcón	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Avda. Arzobispo Morcillo 4
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols UAM-CSIC, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid	Teléfono (phone): 91-497-54-52 Fax: 91 585-44-01 E-mail: rafael.garesse@uam.es

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 <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>Legal Representative of the Department/Centre)</i> José María Sanz Martínez Fecha/ Date: 15-06-2016	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Rafael Garesse Alarcón Fecha /Date 15-06-2016
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> José María Sanz Martínez (Rector UAM)	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> C/. Einstein 3, 28049-Madrid	Teléfono /Telephone: 91-497-40-08 Fax: 91-497-67-55 E-mail: rector@uam.es