

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: 15/03/2023

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**

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>	NW FiPS 10II.3-R4F-H3		
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>	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 Female	40 años 40 years	
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO ☐ SÍ ☒ (especificar) Deletion atípica en la región 7q11.23 del Síndrome de Williams- Beuren / Atypical deletion of the 7q11.23 Williams-Beuren Syndrome region No Yes (specify)		
¿La patología es de origen			

genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO ☐ SÍ ☒ (especificar) Deletion atípica en la región 7q11.23 del Síndrome de Williams- Beuren (817 Kb)/ Atypical deletion of the 7q11.23 Williams-Beuren Syndrome region (817 Kb) <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>
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>	30.10.2016
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	30.10.2016
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 la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 4) Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 4)
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 de pluripotencia inducida (iPSC) a partir de los fibroblastos de un paciente (p4) que presentaba la deleción atípica en 7q11.23 de 817 kb (Antonell et al. 2010) 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 (pMX-OCT4_Flag-VP16-PTV-Sox2_HA-Orange) y un constructo tricistrónico (pMX-KLF4-cMYC-GFP) The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from fibroblasts (p4) of a patient carrying an atypical deletion at 7q11.23 of 817 kb (Antonell et al. 2010), by the retroviral strategy with ectopic expression of 4 transcription factors (OCT4, SOX2, KLF4 y c-MYC), using the retroviral plasmid (pMX-OCT4_Flag-VP16-PTV-Sox2_HA-Orange) and a tricistronic constructor (pMX-KLF4-cMYC-GFP).
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 libres de feeder, en placas recubiertas con Matrigel (Corning). Medio de cultivo mTSeR (StemCell)+ 0,5% Penicilin-Streptomycin (Gibco). 37°C- 5%CO2 Matrigel (Corning) coated plates, feeder free conditions. Culture media mTSER (StemCell) + 0,5% Penicilin-Streptomycin (Gibco). 37°C- 5%CO2
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	Congelación: 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). Descongelación: Los criotubos se descongelaron en hielo y fueron rápidamente centrifugados para realizar el cambio de medio a mTSeR + 0,5% Penicilin-Streptomycin para su siembra. Freezing: clumps pf colonies were cryopreserved in FBS(90%) + DMSO (10%) by isopropanol container at -80°C (-1°C/min). Thawing: vials were thawed on ice and quickly centrifuged in order to change the media with mTSER + 0,5% Penicilin-Streptomycin before seeding.

Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15) <i>Passage at the time of the banking/registration</i> <i>(Max: Passage 15)</i>	Pase 11
¿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 Nanog Sox 2 SSEA3 SSEA4 TRA-1-60 TRA-1-81 Fosfatasa. Alk	Immunocytochemistry (ICC), passage 15. Expression confirmed. ICC, passage 15. Expression confirmed. ICC, passage 15. Expression confirmed. ICC, passage 15. Expression confirmed. ICC, passage 15. Expression confirmed. ICC, passage 15. Expression confirmed.			
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 <i>Ectoderm</i> Mesodermo <i>Mesoderm</i> Endodermo <i>Endoderm</i>	ICC with SOX1, PAX6 and NESTIN, passage 18+5. Expression confirmed. ICC with alpha-SMA, passage 24. Expression confirmed. ICC with AFP, passage 24. Expression confirmed.			
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 <i>Ectoderm</i> Mesodermo <i>Mesoderm</i> Endodermo <i>Endoderm</i>				

Cariotipo (pase) <i>Karyotype (passage)</i>	46,XX p8
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 fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 4) Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 4)
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	La PCR evidenció la integración de los 4 genes; OCT-4, SOX-2, KLF-4, c-MYC. (Anexo 5) Integration of the 4 genes; OCT-4, SOX-2, KLF-4, c-MYC was shown by PCR (Annex 5)
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	Se evidenció el silenciamiento de los 4 genes de reprogramación: OCT-4, SOX-2, KLF-4, c-MYC mediante qRT-PCR (Anexo 5) Silencing of reprogramming genes OCT-4, SOX-2, KLF-4, c-MYC has been shown by qRT-PCR (Annex 5)
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	Anexo 6: Se presenta la amplificación por PCR del punto de rotura en muestras de DNA de un individuo control, de fibroblastos del paciente con la delección de 817kb en 7q11.23 y de la línea del iPSC procedente de este individuo. Annex 6: PCR amplification of deletion junction fragment (breakpoint) and control fragment (control). DNA samples from: control individual with no alterations at 7q11.23, Fibroblast from the individual carrying an atypical deletion of 817 kb at 7q11.23 and iPSCs derived from fibroblast of this individual.
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR (Anexo 7) Negative by PCR (Annex 7)

SECCIÓN 3 **DATOS DEL DEPOSITANTE**
Section 3 *Applicant Details*

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Roser Corominas	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Av/ Diagonal 643 08028 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Universitat de Barcelona	Teléfono (phone): 934021494 Fax: E-mail: rosercorominas@ub.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)

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>	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>
Fecha/ Date:	Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Jordi Garcia Fernandez. Vicerector de Recerca Universitat de Barcelona	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> TRAVESSERA DE LES CORTS, 131-159 08028 BARCELONA. PAVELLÓ ROSA 1r PIS	Teléfono /Telephone: 934035398 Fax: E-mail: g.recerca@ub.edu vr.recerca@ub.edu

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>	
Fecha/ Date:	
Nombre y Cargo del responsable de la generación: <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Anna Veiga. Directora del Banco de Líneas Celulares. Programa de Medicina Regenerativa	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> IDIBELL Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l'Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona	Teléfono /Telephone: 93 607.38.00 ext.3366 Fax: E-mail: aveiga@idibell.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>