

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 to Deposit a human iPS cell line

FECHA: 08.04.19

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 from 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> | BST PBiPS2-SV4F-6 |
| 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> | Células mononucleadas de sangre periférica <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i> |
| Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i> | Masculino, 62 años <i>Male, 62 years</i> |
| ¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i> | NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i> |
| ¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i> | NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i> |

| | |
|---|--|
| Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i> | Fresco <input checked="" type="checkbox"/> Crioconservado <input type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i> |
| Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> 30.10.2017 | Fecha del uso o descongelación (<i>si congelado</i>) <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 30.10.2017 |
| 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 coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5) <i>Microsatellite markers of the initial sample are identical to 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> | No |
| 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) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i> | Generación de las células de pluripotencia inducida (iPSC) a partir de células mononucleadas de sangre periférica de un donante, 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. <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from Peripheral Blood Mononuclear Cells from a 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.</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, CCD1112Sk). 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</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</i> |

| | |
|---|---|
| <p><i>characteristics of the line in culture (form and size of the colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</i></p> | <p><i>diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i></p> |
| <p>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p> | <p>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.</p> <p><i>The clumps of colonies were cryopreserved in FBS(90%)+ DMSO (10%), by programmable freezer (-0.5°C/min.) or in isopropanol containers at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.</i></p> |
| <p>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></p> | <p>Viales congelados a pases 3-13</p> <p>Frozen vials at passages 3-13</p> |
| <p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Comentarios/ Comments:</p> | <p>¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i></p> <p>Sí/ Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> Resultado / Result</p> |

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

| <p>Test de pluripotencia <i>Pluripotency test</i></p> <p>Anexo 1 <i>Annex 1</i></p> | <table border="1"> <thead> <tr> <th>Método <i>Method</i></th> <th>Nº pase <i>Passage n.</i></th> <th>Resultado <i>Results</i></th> <th>Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Oct 4 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nanog inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sox 2 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA3 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SSEA4 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-60 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TRA-1-81 inmunocitoq.</td> <td>11</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fosfatasa. Alk actividad</td> <td>10</td> <td>+</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | Método <i>Method</i> | Nº pase <i>Passage n.</i> | Resultado <i>Results</i> | Comentarios <i>Comments</i> | Oct 4 inmunocitoq. | 11 | + | | Nanog inmunocitoq. | 11 | + | | Sox 2 inmunocitoq. | 11 | + | | SSEA3 inmunocitoq. | 11 | + | | SSEA4 inmunocitoq. | 11 | + | | TRA-1-60 inmunocitoq. | 11 | + | | TRA-1-81 inmunocitoq. | 11 | + | | Fosfatasa. Alk actividad | 10 | + | |
|--|--|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|------|---|---------------------------|----|--|-----------|---------------------------|-----|---|--|---------------------------|----|-----|--|---------------------------|----|---|--|------------------------------|----|---|--|------------------------------|----|---|--|---------------------------------|----|---|--|
| Método <i>Method</i> | Nº pase <i>Passage n.</i> | Resultado <i>Results</i> | Comentarios <i>Comments</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Oct 4 inmunocitoq. | 11 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Nanog inmunocitoq. | 11 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sox 2 inmunocitoq. | 11 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SSEA3 inmunocitoq. | 11 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SSEA4 inmunocitoq. | 11 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TRA-1-60 inmunocitoq. | 11 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TRA-1-81 inmunocitoq. | 11 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Fosfatasa. Alk actividad | 10 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p> | <table border="1"> <thead> <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> </thead> <tbody> <tr> <td>Ectodermo inmunocitoq. <i>Ectoderm</i></td> <td>Tuj1</td> <td>7</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Mesodermo inmunocitoq. <i>Mesoderm</i></td> <td>ASMA, ASA</td> <td>7</td> <td>+/+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Endodermo inmunocitoq. <i>Endoderm</i></td> <td>AFP, FOXA2</td> <td>7</td> <td>+/+</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | Método <i>Method</i> | Marcador <i>Marker</i> | Nº pase <i>Passage n</i> | Resultado <i>Results</i> | Comentarios <i>Comments</i> | Ectodermo inmunocitoq. <i>Ectoderm</i> | Tuj1 | 7 | + | | Mesodermo inmunocitoq. <i>Mesoderm</i> | ASMA, ASA | 7 | +/+ | | Endodermo inmunocitoq. <i>Endoderm</i> | AFP, FOXA2 | 7 | +/+ | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Método <i>Method</i> | Marcador <i>Marker</i> | Nº pase <i>Passage n</i> | Resultado <i>Results</i> | Comentarios <i>Comments</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ectodermo inmunocitoq. <i>Ectoderm</i> | Tuj1 | 7 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mesodermo inmunocitoq. <i>Mesoderm</i> | ASMA, ASA | 7 | +/+ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Endodermo inmunocitoq. <i>Endoderm</i> | AFP, FOXA2 | 7 | +/+ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <p>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).</p> <p><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></p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| <p>Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i></p> | <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <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> </thead> <tbody> <tr> <td>Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td>inmunohist</td> <td>MAP2, GFAP, Neurof.</td> <td>21</td> <td>+ / + / +</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td>inmunohist.</td> <td>ASMA, ASA</td> <td>21</td> <td>+ / +</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td>inmunohist.</td> <td>AFP, FOXA2</td> <td>21</td> <td>+ / +</td> <td></td> </tr> </tbody> </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> | inmunohist | MAP2, GFAP, Neurof. | 21 | + / + / + | | Mesodermo <i>Mesoderm</i> | inmunohist. | ASMA, ASA | 21 | + / + | | Endodermo <i>Endoderm</i> | inmunohist. | AFP, FOXA2 | 21 | + / + | |
|---|--|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|------------|---------------------|----|-----------|--|-------------------------------------|-------------|-----------|----|-------|--|-------------------------------------|-------------|------------|----|-------|--|
| | 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> | inmunohist | MAP2, GFAP, Neurof. | 21 | + / + / + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mesodermo <i>Mesoderm</i> | inmunohist. | ASMA, ASA | 21 | + / + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Endodermo <i>Endoderm</i> | inmunohist. | AFP, FOXA2 | 21 | + / + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Descripción de las características de diferenciación <u>in vivo</u> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i></p> | <p>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).</p> <p><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></p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i></p> | <p>46, XY; p12</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>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></p> | <p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 5)</i></p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i></p> | <p><i>No procede, debido a que se trata un método no-integrativo</i></p> <p><i>Not applicable, due to non-integrating reprogramming methodology</i></p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i></p> | <p>El análisis mediante q-RT-PCR mostró la ausencia de mRNA derivado de virus Sendai en la línea de iPSC y la presencia de mRNA derivado de virus Sendai en células control tras 1 semana de transducción (Anexo 6).</p> <p><i>The q-RT-PCR showed absence of Sendai virus derived mRNAs in iPSCs and presence of Sendai virus derived mRNAs in virus transduced control cells 1 week after transduction (Annex 6).</i></p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | |
|---|--|
| 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> | No procede <i>Not required</i> |
| Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i> | Negativo por PCR (Anexo 7) <i>Negative by PCR (Annex 7)</i> |

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

| | |
|--|--|
| Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Bigas | Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona |
| Centro de Trabajo: Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques | Teléfono (phone): 933160440 Fax: E-mail: anna.bigas1@gmail.com |

| | |
|---|---|
| Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Núria Nogués | Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Pg. Taulat, 116 08005 Barcelona |
| Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Banc de Sang i Teixits | Teléfono (phone): 93 5573500 Fax: E-mail: nnogues@bst.cat |

| | |
|--|--|
| Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Veiga Lluch | Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l'Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona |
| Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB) | Teléfono (phone): 93 3160360 Fax: E-mail: blc@cmrb.eu |

SECCIÓN 4
Section 4

INFORMACIÓN ADICIONAL (OPCIONAL)
Additional information (optional)



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>  Fecha/ Date: 13/5/2019 | Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Fecha /Date: 6/5/2019 |
| Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Joaquim Bellmunt Molins | |
| Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona | Teléfono /Telephone: 933160780 Fax: 933160572 E-mail: jbellmunt@imim.es |

| | |
|--|---|
| 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>  Fecha/ Date: | Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Fecha /Date: 28/5/2019 |
| Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: Banc de Sang i Teixits <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Enric Argelagués Vidal. Director General | |
| Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Edifici Dr. Frederic Duran i Jordà Passeig Taulat, 106-116 08005 Barcelona | Teléfono /Telephone: 93 5573522 Fax: E-mail: eargelagues@bst.cat |

| | |
|--|--|
| <p>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></p> <p style="text-align: center;"> X</p> <p style="text-align: right;">Fecha/ Date: 12/06/19</p> | <p>Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p style="text-align: center;"> 13.VI.19.</p> <p style="text-align: right;">Fecha /Date</p> |
| <p>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Angel Raya. Director</p> | |
| <p>Dirección Postal: <i>Postal Address:</i></p> <p>Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l' Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona</p> | <p>Teléfono /Telephone: 93 3160320</p> <p>Fax:</p> <p>E-mail: gerencia@cmrb.eu</p> |