

**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: 12/09/2019

**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 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*

<b>Nombre de la línea iPS</b> <i>Name of the iPS line:</i>	Ctrl3-FiPS4F1	
<b>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.</b> <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 derivados de una biopsia de piel (paret superior del brazo)/ Fibroblasts were derived from skin biopsy (upper arm)	
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	Mujer Female	52 años Age 52
<b>¿El donante tiene alguna patología?</b> <i>Has the donor any pathological condition?</i>	<b>NO</b> <input checked="" type="checkbox"/> <i>No</i>	<b>SÍ</b> <input type="checkbox"/> (especificar) <i>Yes (specify)</i>
<b>¿La patología es de origen genético?</b> <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	<b>NO</b> <input type="checkbox"/> <i>No</i>	<b>SÍ</b> <input type="checkbox"/> (especificar) <i>Yes (specify)</i>

<b>Muestra biológica recibida</b> <i>Biological sample</i>	<b>Fresco</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>Crioconservado</b> <input type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>
<b>Fecha de la donación de la muestra biológica</b> <i>Date of donation of the biological sample</i>	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> Julio 2018/ July, 2018
<b>Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario).</b> <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	DMEM (Invitrogen 21969-035), 2mM Glutamax (Invitrogen #35050-038), 1x Penstrep, 20% FBS (Gibco #10270-106).
<b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen</b> <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the original cells.</i>	Si (ver Anexo) Yes (see Annex)
<b>¿Hay disponibilidad de viales congelados de las células de origen? ¿En qué pase?</b> <i>Is there availability of frozen vials of original cells? At what passage?</i>	Sí, p10 Yes, p10
<b>Método utilizado en la generación de la línea iPSc. (Integrativa/ No-integrativa) Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados.</b> <i>Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	Sendai virus (CytoTune 2.0, Thermo Fisher) Oct3/4 Sox2 Klf4 cMyc
<b>Condiciones de cultivo de la línea de iPSc generada. (si se describen en publicación, indicar referencia)</b> <i>iPS Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>	Cultivo sobre fibroblastos humanos del prepucio. Medio de cultivo KO DMEM, KSR 20%, Glutamax 2mM, aminoácidos no esenciales 0.1mM, β-mercaptoetanol 0.23mM, basic FGF 10ng/mL, and peniciline/streptomycine. Pase manual cada 6-8 días. Cultivo en condiciones libre de fibroblastos, placas recubiertas con matrigel usando medio mTeSR1.  Culture on human foreskin feeders. Culture medium: KO DMEM, KSR 20%, Glutamax 2mM, non essential aminoacids 0.1mM, β-mercaptoethanol 0.23mM, basic FGF 10ng/mL and peniciline/streptomycine. Cells were mechanically passaged every 6-8 days.  The hiPSCs were adapted to feeder-free cell culture on Matrigel coated plates using mTeSR1 medium.

<p><b>Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo (forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma; otros)</b>  <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></p>	<p>Colonias poligonales 1-2mm en diámetro. Elevada relación núcleo/ citoplasma.          Polygonal colonies 1-2mm diameter large. High nucleus/cytoplasm ratio.</p>
<p><b>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación)</b>  <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p>	<p>Cultivo libre de fibroblastos:          Congelados en FBS + 10% DMSO</p> <p>Criopreservados en contenedor de isopropanol a -80°C y posteriormente en nitrógeno líquido. Descongelación rápida a 37°C.          Criopreserved in isopropano container at -80°C, over night, and stored in liquid nitrogen the next day. Rapid thawing at 37°C.</p>
<p><b>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15)</b>  <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>Pase 14          Passage 14</p>
<p><b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b>  <i>Has the line been genetically modified?</i>          Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p><b>Comentarios/ Comments:</b></p>	<p><b>¿Se llevó a cabo un análisis clonal?</b>  <i>Has a clonal analysis been carried out?</i>          Sí/ Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> <b>Resultado / Result</b></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><b>Test de pluripotencia</b> <i>Pluripotency test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="443 387 587 450"></th> <th data-bbox="587 387 890 450"><b>Método</b> <i>Method</i></th> <th data-bbox="890 387 1070 450"><b>Nº pase</b> <i>Passage n.</i></th> <th data-bbox="1070 387 1230 450"><b>Resultado</b> <i>Results</i></th> <th data-bbox="1230 387 1439 450"><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="443 510 587 539"><b>Oct 4</b></td> <td data-bbox="587 510 890 539">Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;</td> <td data-bbox="890 510 1070 539"></td> <td data-bbox="1070 510 1230 539">RT-PCR</td> <td data-bbox="1230 510 1439 539">+( Anexo)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 568 587 598"><b>Nanog</b></td> <td data-bbox="587 568 890 598">Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;</td> <td data-bbox="890 568 1070 598"></td> <td data-bbox="1070 568 1230 598">RT-PCR</td> <td data-bbox="1230 568 1439 598">+ (Anexo)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 627 587 656"><b>Sox 2</b></td> <td data-bbox="587 627 890 656">Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;</td> <td data-bbox="890 627 1070 656"></td> <td data-bbox="1070 627 1230 656">RT-PCR</td> <td data-bbox="1230 627 1439 656">+( Anexo)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 685 587 714"><b>SSEA3</b></td> <td data-bbox="587 685 890 714"></td> <td data-bbox="890 685 1070 714"></td> <td data-bbox="1070 685 1230 714"></td> <td data-bbox="1230 685 1439 714"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 743 587 772"><b>SSEA4</b></td> <td data-bbox="587 743 890 772">Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;</td> <td data-bbox="890 743 1070 772"></td> <td data-bbox="1070 743 1230 772">Flow cytometry</td> <td data-bbox="1230 743 1439 772">+ (Anexo)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 801 587 831"><b>TRA-1-60</b></td> <td data-bbox="587 801 890 831">Flow Cytometry</td> <td data-bbox="890 801 1070 831"></td> <td data-bbox="1070 801 1230 831"></td> <td data-bbox="1230 801 1439 831">+ (Anexo)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 860 587 889"><b>TRA-1-81</b></td> <td data-bbox="587 860 890 889">Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry</td> <td data-bbox="890 860 1070 889"></td> <td data-bbox="1070 860 1230 889"></td> <td data-bbox="1230 860 1439 889">+(Anexo)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 918 587 947"><b>Fosfatasa. Alk</b></td> <td data-bbox="587 918 890 947">Si/ Yes</td> <td data-bbox="890 918 1070 947"></td> <td data-bbox="1070 918 1230 947"></td> <td data-bbox="1230 918 1439 947">+(Anexo)</td> </tr> </tbody> </table>		<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n.</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>	<b>Oct 4</b>	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;		RT-PCR	+( Anexo)	<b>Nanog</b>	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;		RT-PCR	+ (Anexo)	<b>Sox 2</b>	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;		RT-PCR	+( Anexo)	<b>SSEA3</b>					<b>SSEA4</b>	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;		Flow cytometry	+ (Anexo)	<b>TRA-1-60</b>	Flow Cytometry			+ (Anexo)	<b>TRA-1-81</b>	Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry			+(Anexo)	<b>Fosfatasa. Alk</b>	Si/ Yes			+(Anexo)
	<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n.</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>																																										
<b>Oct 4</b>	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;		RT-PCR	+( Anexo)																																										
<b>Nanog</b>	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;		RT-PCR	+ (Anexo)																																										
<b>Sox 2</b>	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;		RT-PCR	+( Anexo)																																										
<b>SSEA3</b>																																														
<b>SSEA4</b>	Inmunocitoquímica/ Immunocytochemistry;		Flow cytometry	+ (Anexo)																																										
<b>TRA-1-60</b>	Flow Cytometry			+ (Anexo)																																										
<b>TRA-1-81</b>	Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry			+(Anexo)																																										
<b>Fosfatasa. Alk</b>	Si/ Yes			+(Anexo)																																										
<p><b>Test de diferenciación in vitro</b> <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="443 1088 587 1151"><b>Comentarios</b></th> <th data-bbox="587 1088 751 1151"><b>Método</b> <i>Method</i></th> <th data-bbox="751 1088 890 1151"><b>Marcador</b> <i>Marker</i></th> <th data-bbox="890 1088 1070 1151"><b>Nº pase</b> <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1070 1088 1230 1151"><b>Resultado</b> <i>Results</i></th> <th data-bbox="1230 1088 1439 1151"><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="443 1207 587 1270"><b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="587 1207 751 1270">Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry</td> <td data-bbox="751 1207 890 1270">TUJ-1/PAX6</td> <td data-bbox="890 1207 1070 1270"></td> <td data-bbox="1070 1207 1230 1270"></td> <td data-bbox="1230 1207 1439 1270"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 1303 587 1366"><b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="587 1303 751 1366">Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry</td> <td data-bbox="751 1303 890 1366">SMA/VIMENTIN</td> <td data-bbox="890 1303 1070 1366"></td> <td data-bbox="1070 1303 1230 1366"></td> <td data-bbox="1230 1303 1439 1366"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 1400 587 1462"><b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="587 1400 751 1462">Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry</td> <td data-bbox="751 1400 890 1462">AFP/FOXA2</td> <td data-bbox="890 1400 1070 1462"></td> <td data-bbox="1070 1400 1230 1462"></td> <td data-bbox="1230 1400 1439 1462"></td> </tr> </tbody> </table>	<b>Comentarios</b>	<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Marcador</b> <i>Marker</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>	<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry	TUJ-1/PAX6				<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry	SMA/VIMENTIN				<b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i>	Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry	AFP/FOXA2																								
<b>Comentarios</b>	<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Marcador</b> <i>Marker</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>																																									
<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry	TUJ-1/PAX6																																												
<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry	SMA/VIMENTIN																																												
<b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i>	Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry	AFP/FOXA2																																												
<p><b>Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i></b> <i>(espontánea/inducida)</i></p> <p><i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i></p>	<p>Ensayo de EBs. Las colonias iPSC se levantaron manualmente y cultivaron en condiciones no adherentes en medio mTeSR1 durante 24h, seguido del medio de inducción a endodermo, mesodermo, ectodermo durante los 6 días siguientes. Posteriormente, los EBs fueron sembrados sobre cubreobjetos tratados con 0.1% de gelatina durante 2h a temperatura ambiente y cultivados dos semanas en el mismo medio (ver Anexo).</p> <p>EB assay: the iPSC colonies were lifted manually and cultured in non-adherent conditions in mTeSR1 medium for 24h, followed by endoderm, ectoderm and mesoderm -inducing cell culture media for the following 6 days. Thereafter, the EBs were seeded on glass coverslips treated with 0,1% gelatin for 2 h/RT and cultured during 2 weeks in endoderm, ectoderm and mesoderm -inducing cell culture media. (Annex).</p>																																													

<p><b>Test de diferenciación in vivo</b> <i>In vivo differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="432 114 608 224"><b>Comentarios</b></th> <th data-bbox="608 114 751 224"><b>Método</b> <i>Method</i></th> <th data-bbox="751 114 895 224"><b>Marcador</b> <i>Marker</i></th> <th data-bbox="895 114 1038 224"><b>Nº pase</b> <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1038 114 1230 224"><b>Resultado</b> <i>Results</i></th> <th data-bbox="1230 114 1442 224"><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="432 224 608 358"><b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 358 608 470"><b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 470 608 577"><b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	<b>Comentarios</b>	<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Marcador</b> <i>Marker</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>	<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>						<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>						<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>					
<b>Comentarios</b>	<b>Método</b> <i>Method</i>	<b>Marcador</b> <i>Marker</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>	<b>Comentarios</b> <i>Comments</i>																				
<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>																									
<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>																									
<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>																									
<p><b>Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i></b> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i></p>																									
<p><b>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase)</b> <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i></p>	<p>Cariotipo normal femenino (ver Anexo) p. Normal female karyotype (see Annex) p.</p>																								
<p><b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de la línea celular</b> <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the cell line</i></p>	<p>Si (ver Anexo) Yes (see Annex)</p>																								
<p><b>Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b> <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>Método no integrativo Non-integrative method</p>																								

<b>Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b> <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	RT-PCR ( ver Anexo) RT-PCR ( see Annex)
<b>Confirmación del diagnóstico genotípico en las iPSC generadas a partir de muestras con mutación genética</b> <i>Confirmation of genotypic diagnosis of the cell line generated from samples with genetic mutation</i>	
<b>Test de micoplasma</b> <b><i>Mycoplasma Test</i></b>	Negativo (Ver Anexo) Negative (See Annex)

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

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Slaven Erceg Vukicevic	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> c/Eduardo Primo Yúfera 3, Valencia 46012
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe	<b>Teléfono (phone):</b> +963289680 <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> serceg@cipf.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.*

<b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b> <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>Legal Representative of the Department/Centre</i>	<b>Firma del Investigador Principal</b> <i>Signature of the Principal Investigator</i>
Fecha/ Date: 17/12/2019	Slaven Erceg Vukicevic  Fecha /Date 17/12/2019
<b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Dña. Deborah Burks	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i> FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe C/ D' Eduardo Primo Yúfera, 3 46012 Valencia	<b>Teléfono /Telephone:</b> ++34 963289680 <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> 