

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:** 2 febrero 2022

**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 PR-01-2015**

**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 iPSC</b> <i>Name of the iPSC line:</i>	CRB1-MiPS4F1
<b>Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)</b>	ESi082-A
<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>	Monocitos (PBMCs) de sangre periférica obtenida por venopunción. <i>Peripheral blood monocytes (PBMCs) obtained by venopuncture.</i>
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	hombre (male)      56
<b>¿El donante tiene alguna patología?</b> <i>Has the donor any pathological condition?</i>	<b>NO</b> <input type="checkbox"/> <b>SÍ</b> <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) distrofia macular /macular <i>dystrophy      Yes      (specify)</i> No      Yes
<b>¿La patología es de origen genético?</b> <i>Is the pathological condition of</i>	<b>NO</b> <input type="checkbox"/> <b>SÍ</b> <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Mutations CRB1/c.613_619del

<i>genetic origin?</i>	CRB1/c.498_506del No Yes (specify)
<b>Muestra biológica recibida</b> <i>Biological sample</i>	<b>Fresco</b> <input checked="" type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <b>Crioconservado</b> <input type="checkbox"/> <i>Cryopreserved</i>
<b>Fecha de la donación de la muestra biológica</b> <i>Date of donation of the biological sample</i>	9 enero 2019/ <i>January 9th, 2019</i>
<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	-
<b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR/otros marcadores de las células de origen</b> <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR/ other markers of the original cells.</i>	See Anexo 3 AMEL X,Y CSF1PO 10, 11 D5S818 11, 12 D13S317 12, 13 D21S11 28, 31 D16S539 12 D7S820 8, 9 TH01 6, 9 TPOX 8 vWA 16, 18
<b>Método utilizado en la generación de la línea iPSC. (Integrativa/ No-integrativa)</b> <b>Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados.</b> <i>Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative)</i> <i>Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	No integrativa. Los factores de Yamanaka (hOCT3/4, hSOX2, hc-MYC y hKLF4), fueron transducidos mediante virus no integrativo (Sendai virus). <i>The reprogramming factors hOCT3/4, hSOX2, hc-MYC, and hKLF4 were transduced into the primary PBMCs via the non-integrative Sendai virus.</i>
<b>Condiciones de cultivo de la línea de iPSC generada. (si se describen en publicación, indicar referencia)</b> <i>iPSC Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>	Las células iPS se mantuvieron inicialmente en cultivo sobre feeders (fibroblastos humanos irradiados ref. ATCC CRL2429) en medio hESC completo y en un incubador estándar con pase manual una vez por semana a un ratio 1:3. Posteriormente, las células iPS se adaptaron a cultivo sobre Matrigel sin feeders, en medio mTeSR1 (STEMCELL) con pase mediante dispasa una vez por semana en ratio 1:10. Esta es la condición de las células congeladas para banco. The iPSC cells were maintained on feeders (human fetal foreskin fibroblasts; ATCC CRL2429, inactivated by 45Gy irradiation), with mechanical passage once a week and 1:3 split ratio. Later, cells were adapted to grow without feeders, on Matrigel and mTeSR™1 medium with weekly passage at 1:10 split ratio. Frozen vials for biobank were cells grown on these conditions.  hESC medium: Knock out DMEM-F12 (Gibco); 20% Knock out serum (Gibco); 1% glutamine (Gibco); 1% non-essential amino acids (Gibco); 0.23mM b-mercaptoethanol (Gibco); 1% pen-strep (Gibco) and 10 ng/ul bFGF (Preprotech)
<b>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación)</b>	Cada criovial contiene las células de un pocillo de una placa de 6-well de iPSC adaptadas a cultivo sin feeders en medio mTeSR1 sobre matrigel. Las células se suspendieron en 1 mL de solución de congelación: 60% mTeSR1, 30%

<p><i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p>	<p>knockout serum (KSR) y 10% de dimetilsulfóxido (DMSO). Inmediatamente se congelaron a una velocidad de enfriamiento lenta en un contenedor de isopropanol durante 24h a -80°C y posteriormente se almacenaron en un tanque de nitrógeno líquido.</p> <p><i>Each cryovial contains the cells from a well of a six-well-plate. Cells were previously adapted to grow onto Matrigel in mTeSR1 medium. To freeze them, cells were suspended in 1 ml of: 60% mTeSR1, 30% KSR, 10% DMSO, immediately frozen at a slow cooling rate in a 2-propanol container at -80°C along 24h, and subsequently stored in a liquid nitrogen tank.</i></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>9</p>
<p><b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b> <i>Has the line been genetically modified?</i></p>	<p>Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Especificar: <i>Specify:</i></p>

**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*

<b>Test de pluripotencia</b> <i>Pluripotency test</i>	<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>	
Se informará de al menos 5 de los siguientes marcadores  <i>At least 5 of the following test will be reported</i>	<b>Oct 4</b> IF	10	+	anexo 5	
	<b>Nanog</b> IF	10	+		
	<b>Sox 2</b> IF	10	+		
	<b>SSEA3</b> IF	10	+		
	<b>SSEA4</b> IF	10	+		
	<b>TRA-1-60</b>				
	<b>TRA-1-81</b> IF	10	+		
	<b>Fosfatasa. Alk AP assay kit</b>	9	+		
<b>Test de diferenciación in vitro</b> <i>In vitro differentiation test</i>	<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>Cuerpos embrioides</b> <i>Embryoid bodies</i>	<b>Ectodermo</b> IF	PAX6	8	+	anexo 6
<i>Ectoderm</i>					
<b>Mesodermo</b> IF	SMA	8	+		
<i>Mesoderm</i>					
<b>Endodermo</b> IF	AFP	8	+		
<i>Endoderm</i>					
<b>Test de diferenciación in vivo</b> <i>In vivo differentiation test</i>	<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>Teratomas</b> <i>Teratomas</i>	<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>				
	<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>				
	<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>				

<b>Cariotipo (pase)</b> <i>Karyotype</i> <i>(passage)</i>	46, XY (11) See Anexo 2
<b>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</b>	Anexo 3 AMEL            X,Y CSF1PO        10, 11 D5S818        11, 12 D13S317       12, 13 D21S11        28, 31 D16S539       12 D7S820        8, 9 TH01           6, 9 TPOX           8 vWA            16, 18
<b>Test de integración)</b> <i>Integration Test)</i>	-
<b>Test de silenciamiento)</b> <i>Silencing Test)</i>	Virus silenciado. <i>Virus silenced</i> anexo 4
<b>Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen</b> <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	Secuenciación Sanger de la región con la mutación en cada alelo. <i>Sanger sequencing of mutations in each allele.</i> Anexo 1
<b>Test de micoplasma</b> <i>Mycoplasma Test</i>	<b>Negativo</b> <i>Negative</i> Anexo 7.

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

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i>  Francisco J. Díaz Corrales	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i>  Americo Vespucio 24, 41092 Sevilla, España
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i>  CABIMER	<b>Teléfono (phone):</b> 954467425  <b>Fax:</b>  <b>E-mail:</b> francisco.diaz@cabimer.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):*

Esta línea se generó para el estudio de la distrofia macular causada por el gen CRB1. La reprogramación y caracterización se llevó a cabo en CABIMER por Alberto Cañibano Hernández y Berta de la Cerda.

*This line was generated for the study of CRB1-associated macular dystrophy. The reprogramming and characterization was carried out in CABIMER by Alberto Cañibano Hernández and Berta de la Cerda.*

**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.*

<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>  BALBONTIN CASILLAS GONZALO - 28733391C <small>Firmado digitalmente por BALBONTIN CASILLAS GONZALO - 28733391C Número de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-28733391C, givenName=GONZALO, sn=BALBONTIN CASILLAS GONZALO - 28733391C Fecha: 2022.02.07 17:42:43 +01'00'</small>  Fecha/ Date:	<b>Firma del Investigador Principal</b> <i>Signature of the Principal Investigator</i>  DIAZ CORRALES FRANCISCO JAVIER - 29567255L <small>Firmado digitalmente por DIAZ CORRALES FRANCISCO JAVIER - 29567255L Fecha: 2022.02.02 13:56:51 +01'00'</small>  Fecha /Date
<b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Gonzalo Balbontín Casillas (Director Gerente)	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i>  Fundación Progreso y Salud Avenida Americo Vespucio, 15 41092 Sevilla	<b>Teléfono /Telephone:</b> 955 04 04 50  <b>Fax:</b>  <b>E-mail:</b> fundacion.progreso.salud@junta de andalucia.es

<b>Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación</b> <i>Signature of the responsible for the iPSC generation/ Generation center</i>    Fecha/ Date:	DE LA CERDA HAYNES BERTA - 27309906M <small>Firmado digitalmente por DE LA CERDA HAYNES BERTA - 27309906M Fecha: 2022.02.02 13:01:04 +01'00'</small>
<b>Nombre y Cargo del responsable de la generación:</b> <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Berta de la Cerda Haynes (Investigadora senior)	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i>  Americo Vespucio 24, 41092 Sevilla, España	<b>Teléfono /Telephone:</b> 954467425  <b>Fax:</b>  <b>E-mail:</b> berta.delacerda@cabimer.es

## **(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](mailto: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>

