

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: 26 Marzo 2025

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>	CdLS FiPS24-Ep6F-1
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 15 años/ 15 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO ☐ SÍ ☒ (especificar) Síndrome de Cornelia de Lange/ Cornelia de Lange Syndrome No Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of</i>	NO ☐ SÍ ☒ (especificar) c.2479_2480delAG, p.R827GfsX2 (NIPBL)

Documento de Solicitud de registro y depósito de una línea iPS humana. Versión enero 2021
Los apartados que requieran entrada de texto, deben rellenarse tanto en castellano como en inglés
Text items should be filled in both Spanish and English

Página 1 de 8



genetic origin?	No Yes (specify)
Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	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>	No conocida. Los fibroblastos proceden de de un Biobanco Unknown. The fibroblasts come from a Biobank
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	12/05/2023
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 las células pluripotenciales inducidas (iPSC) a partir de fibroblastos (p6) de una paciwnw con Síndrome de Cornelia de Lange, mediante la nucleofección con vectores episomales con expresión ectópica de 6 factores de transcripción (pCXLE-hOct3/4-shp53-F, Addgene #27077; pCXLE-hSK, Addgene # 27078; pCXLE-hUL, Addgene # 27080). En paralelo se nucleofectaron fibroblastos con el plásmido pCXLE-EGFP (Addgene # 27082) como control para calcular la eficiencia. The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from fibroblasts (p6) from a patient showing Cornelia de Lange Syndrome by nucleofection with Amaxa Human Dermal Fibroblast Nucleofector kit (Lonza, #VPD-1001) and episomal vectors with ectopic expression of 6 transcription factors transcripción (pCXLE-hOct3/4-shp53-F, Addgene #27077; pCXLE-hSK, Addgene # 27078; pCXLE-hUL, Addgene # 27080). In parallel fibroblasts were nucleofected with a control plasmid carrying EGFP (pCXLE-EGFP, Addgene # 27082) to calculate efficiency of nucleofection.
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>	Support: human foreskin fibroblasts (ATCC, American Type Culture Collection, CCD112Sk). 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)
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	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.). Los viales se han descongelado a 37°C mediante descongelación rápida. The clumps of colonies were cryopreserved in FBS(90%)+ DMSO (10%), by isopropanol container at -80°C (1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C



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>	p14
¿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	inmunocitoquímica	13	+	Anexo 1/Annex 1	
	Nanog	inmunocitoquímica	13	+		
	Sox 2	inmunocitoquímica	13	+		
	SSEA3	inmunocitoquímica	13	+		
	SSEA4	inmunocitoquímica	13	+		
	TRA-1-60	inmunocitoquímica	13	+		
	TRA-1-81	inmunocitoquímica	13	+		
	Fosfatasa. Alk	actividad	13	+		
Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i>	Comentarios	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>	inmunocitoq. TUJ1/GFAP	p13	+/+	Anexo 2 /Annex 2
		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA/GATA4	p13	+/+	
		Endoderm <i>Endoderm</i>	inmunocitoq. AFP/FOXA2	p13	+/+	
Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	Comentarios	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>				

Documento de Solicitud de registro y depósito de una línea iPS humana. Versión enero 2021
 Los apartados que requieran entrada de texto, deben rellenarse tanto en castellano como en inglés
Text items should be filled in both Spanish and English

Página 4 de 8



Cariotipo (pase) <i>Karyotype (passage)</i>	46,XX (p12) Anexo 3/ Annex 3
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>	El análisis mediante QRT-PCR mostró la ausencia de plásmidos episomales en la línea de iPSC y en fibroblastos control no-nucleofectados; y presencia de plásmidos en fibroblastos control nucleofectados con GFP tras 72h tras nucleofección (Anexo 5). The absolute quantitative real time PCR showed absence of episomal plasmids in iPSCs and non-nucleofected fibroblasts and presence of plasmids in GFP nucleofected control fibroblasts 72h after nucleofection (Annex 5).
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	La QRT_PCR evidenció los niveles de expresión de mRNA de marcadores de pluripotencia endógenos (CDS) y de p53 y EBNA-1 de fibroblastos control nucleofectados con GFP 72h tras nucleofección (pla) (Anexo 5) QRT-PCR showed mRNA expression levels of endogenous pluripotency markers (CDS) and no expression of transgenes (pla) and as control p53 and EBNA-1 expression of GFP nucleofected control fibroblasts 72h after nucleofection (Annex 5)
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	No realizado Not done
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR (Anexo 6) Negative by PCR (Annex 6)



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

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Ethel Queralt	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> C/ Jaume Roig, 11, Valencia
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC)	Teléfono (phone): 663978587 Fax: E-mail: equeralt@ibv.csic.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):

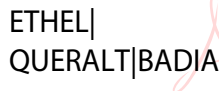
Otras observaciones o información relevantes (a rellenar por el BNLC):
Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)



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:	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  Digitally signed by ETHEL QUERALT BADIA Date: 2025.03.27 08:10:31 +01'00' Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Susana Rodriguez Navarro, Directora	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Calle Jaume Roig,11 Valencia	Teléfono /Telephone: 9633911760 Fax: E-mail: direccion.ibv@csic.es

Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación <i>Signature of the responsible for the iPSC generation/ 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. IDIBELL	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l'Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona	Teléfono /Telephone: 93 607.38.00 ext.3360 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>

