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: 20.06.2023

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 *Name of the iPSC line:*	GNB1 FiPS2-Ep6F-6
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** *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.*	Fibroblastos de dermis procedentes de biopsia de piel. Dermal fibroblasts from skin biopsy.
Sexo y edad del donante. *Sex and age of the donor*	Masculino 35 años Male 35 years
¿El donante tiene alguna patología? *Has the donor any pathological condition?*	**NO** ☒ *No* **SÍ** ☐ (especificar) *Yes (specify)*
¿La patología es de origen genético? *Is the pathological condition of genetic origin?*	**NO** ☐ *No* **SÍ** ☐ (especificar) *Yes (specify)*

Muestra biológica recibida *Biological sample*	**Fresco** ☒ *Fresh* **Crioconservado** ☐ *Cryopreserved*
Fecha de la donación de la muestra biológica *Date of donation of the biological sample*	30.04.21
Fecha del uso o descongelación *(si congelado)* *Date used or thawed (if frozen)*	Biopsia de piel 30.04.21/ fibroblastos 18.01.22 Skin biopsy 30.04.21/ fibroblasts 18.01.22
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR/otros marcadores de las células de origen *Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR/ other markers of the original cells.*	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 indentical 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. *Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative)* *Specify factors and plasmids used for reprogramming*	Generación de las células pluripotenciales inducidas (iPSC) a partir de fibroblastos (p3), mediante la nucleofeccion con Amaxa Human Dermal Fibroblast Nucleofector kit (Lonza, #VPD-1001) y 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 (p3) 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) *iPSC Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)*	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)
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) *Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)*	La congelación de los clumps de colonias se ha realizado en FBS(90%) + DMSO(10%), mediante contenedor de isopropanol a -80ºC (1ºC/min.). Los viales se han descongelado a 37ºC mediante descongelación rápida. The clumps of colonies were cryopreserved in FBS(90%)+ DMSO (10%), by isopropanol container at -80ºC (1ºC/min). Vials were thawed quickly at 37ºC
Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15) *Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)*	p10-p11

¿Ha sido la línea modificada genéticamente? *Has the line been genetically modified?*	**Sí** *Yes* ☐ **No** *No* ☒ Especificar: *Specify*:

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 *Pluripotency test*		**Método** *Method*	**Nº pase** *Passage n.*	**Resultado** *Results*	**Comentarios** *Comments*
Se informará de al menos 5 de los siguientes marcadores *At least 5 of the following test will be reported*	**Oct 4**	inmunocitoquímica	p9	+	Anexo 1/Annex 1
	Nanog	inmunocitoquímica	p9	+	
	Sox 2	inmunocitoquímica	p9	+	
	SSEA3	inmunocitoquímica	p9	+	
	SSEA4	inmunocitoquímica	p9	+	
	TRA-1-60	inmunocitoquímica	p9	+	
	TRA-1-81	inmunocitoquímica	p9	+	
	Fosfatasa. Alk	actividad	p10	+	

Test de diferenciación in vitro *In vitro differentiation test*		**Método** *Method*	**Marcador** *Marker*	**Nº pase** *Passage n*	**Resultado** *Results*	**Comentarios** *Comments*
Cuerpos embrioides *Embryoid bodies*	**Ectodermo** *Ectoderm*	inmunocitoq.	TUJ1/GFAP	p10	+/+	Anexo 2 /Annex 2
	Mesodermo *Mesoderm*	inmunocitoq.	ASMA/GATA4	p10	+/+	
	Endoderm *Endoderm*	inmunocitoq.	AFP/FOXA2	p10	+/+	

Test de diferenciación in vivo *In vivo differentiation test*		**Método** *Method*	**Marcador** *Marker*	**Nº pase** *Passage n*	**Resultado** *Results*	**Comentarios** *Comments*
Teratomas *Teratomas*	**Ectodermo** *Ectoderm*					
	Mesodermo *Mesoderm*					
	Endodermo *Endoderm*					

Cariotipo (pase)) *Karyotype (passage))*	46, XY (p9-p11) 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 indentical than the markers of the iPS line (Annex 4)
Test de integración) *Integration Test)*	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) *Silencing Test)*	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 *Confirmation of the mutation in the original cells*	No realizado Not done
Test de micoplasma ***Mycoplasma Test***	Negativo por PCR (Anexo 6) Negative by PCR (Annex 6)

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE
Section 3 Applicant Details

Investigador Principal: *Principal Investigator:* Miguel Chillón Rodríguez	**Dirección Postal:** *Postal address:* Edifici H, planta 5; Av. Vall Moronta s/n; Campus UAB; Bellaterra 08193
Centro de Trabajo: *Institution:* Instituto de Neurociencias; Universidad Autónoma de Barcelona	**Teléfono** *(phone)***:** +34935814199 **Fax:** **E-mail:** miguel.chillon@uab.cat

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):
Los fibroblastos proceden del padre de portador de la variante NM_001282539:c.239T>C asociada al gen GNB1

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 *(Representante legal del Departamento/Centro)* *Legal Reprentative of the Department/Centre)* Signat digitalment per: UAB Universitat Autònoma de Barcelona Rosa Maria Sebastián Pérez Vicerectora d'Innovació, Transferència i Emprenedoria 2026.06.01 12:58:45 +02'00' Fecha/ Date:	**Firma del Investigador Principal** *Signature of the Principal Investigator* Miguel Chillon Rodriguez MIGUEL CHILLÓN RODRÍGUEZ 2026.06.01 10:44:36 +02'00' Fecha /Date 01/06/26
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: *Name and Position of the Person Representing the Centre:* Rosa Maria Sebastián Pérez, Vicerectora de Innovación, Transferencia y Emprendeduria	
Dirección Postal: *Postal Address:* Edifici A, Plaça Acadèmica, 08193 Bellaterra	**Teléfono /***Telephone***:** +34935814288 **Fax:** **E-mail:** RosaMaria.Sebastian@uab.cat

Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación *Signature of the responsible for the iPSC generation/ Generation center* ANA MARIA VEIGA LLUCH DNI 46109740F Firmado digitalmente por ANA MARIA VEIGA LLUCH - DNI 46109740F Fecha: 2026.06.01 13:39:32 +02'00' Fecha/ Date:	
Nombre y Cargo del responsable de la generación: *Name and Position of the responsible for the iPSC generation* Anna Veiga. Directora del Banco de Líneas Celulares. Programa de Medicina Regenerativa. IDIBELL	
Dirección Postal: *Postal Address:* Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l'Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona	**Teléfono /***Telephone***:** 93 6073800 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://hpscreg.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 <hpscreg-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 Intitution> 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