

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: 03/02/2022

#### 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**

#### 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><br><i>Name of the iPSC line:</i>   | PLANFiPS1-Sv4F-1   |  |
| <b>Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)</b>  | RCPFi005-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><br><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> | Biopsia cutánea de la cara ventral del brazo (diámetro 4-6 mm) Fibroblastos de la dermis<br><br>Skin biopsy from the ventral side of the arm (4-6 mm diameter) Demal fibroblasts |  |
| <b>Sexo y edad del donante.</b><br><i>Sex and age of the donor</i>  | Male 5 years old<br>Hombre 5 años  |  |
| <b>¿El donante tiene alguna patología?</b><br><i>Has the donor any pathological condition?</i>  | <b>NO</b> <input type="checkbox"/><br>neurodegeneration)<br>No   | <b>SÍ</b> <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) PLAN (PLA2G6-associated<br>Yes (specify) |
| <b>¿La patología es de origen genético?</b><br><i>Is the pathological condition of</i>  | <b>NO</b> <input type="checkbox"/><br>en homocigosis   | <b>SÍ</b> <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) mutación c.2356G>A (p.E786K)             |

|   |  |
|---|--|
| <i>genetic origin?</i>  | No Yes (specify)   |
| <b>Muestra biológica recibida</b><br><i>Biological sample</i>   | <b>Fresco</b> <input checked="" type="checkbox"/><br><i>Fresh</i> <b>Crioconservado</b> <input type="checkbox"/><br><i>Cryopreserved</i>   |
| <b>Fecha de la donación de la muestra biológica</b><br><i>Date of donation of the biological sample</i>   | 9 - septiembre - 2020<br>9- September - 2020   |
| <b>Fecha del uso o descongelación</b><br><i>(si congelado)</i><br><i>Date used or thawed (if frozen)</i>  | 14 - septiembre - 2020   |
| <b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR/otros marcadores de las células de origen</b><br><i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR/ other markers of the original cells.</i>  | Sí ver anexo)<br>Yes (see annex)   |
| <b>Método utilizado en la generación de la línea iPSC. (Integrativa/ No-integrativa) Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados.</b><br><i>Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative)</i><br><i>Specify factors and plasmids used for reprogramming</i> | Cyto Tune iPSC 2.0 reprogramming kit (Life Technologies)<br>Método no integrativo / Non-integrative method<br><br>Reprogramming factors: OCT3/4, SOX2, CMYC, KLF4  |
| <b>Condiciones de cultivo de la línea de iPSC generada. (si se describen en publicación, indicar referencia)</b><br><i>iPSC Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>  | Ver artículo en anexo / See the article in annex<br><br>Machuca et al. Generation of three human iPSC lines from PLAN (PLA2G6-associated neurodegeneration) patients. Stem Cell Research 53: 102338 (2021).  |
| <b>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación)</b><br><i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>   | Cultivo sobre fibroblastos:<br>Solution A: 50% hESC medium, 50% KSR; Solution B: 80% hESC medium, 20% DMSO (Sol A:Sol B =1:1)<br><br>Cultivo libre de fibroblastos:<br>Congelados en FBS + 10% DMSO<br><br>Criopreservados en contenedor de isopropanol a -80°C y posteriormente en nitrógeno líquido. Descongelación rápida a 37°C.<br>Cryopreserved in isopropano container at -80°C, over night, and stored in liquid nitrogen the next day. Rapid thawing at 37°C. |
| <b>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15)</b><br><i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i>   | Pase 13<br>Passage 13  |

**¿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*

| <b>Test de pluripotencia</b><br><i>Pluripotency test</i>   | <b>Método</b><br><i>Method</i>   | <b>Nº pase</b><br><i>Passage n.</i>                  | <b>Resultado</b><br><i>Results</i> | <b>Comentarios</b><br><i>Comments</i> |                                       |
|--|--|--|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| <p>Se informará de al menos 5 de los siguientes marcadores</p> <p><i>At least 5 of the following test will be reported</i></p> | <p><b>Oct 4</b> Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry, p13, +</p> <p><b>Nanog</b> Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry, p13, +</p> <p><b>Sox 2</b> Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry, p13, +</p> <p><b>SSEA3</b></p> <p><b>SSEA4</b> (1) Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry, pX, +; (2) Flow Citometry, SSEA4 99%</p> <p><b>TRA-1-60</b> Flow Citometry, TRA-1-60 63% , p13</p> <p><b>TRA-1-81</b></p> <p><b>Fosfatasa. Alk</b> Sí/Yes</p> |  |                                    |                                       |                                       |
| <b>Test de diferenciación in vitro</b><br><i>In vitro differentiation test</i>   | <b>Método</b><br><i>Method</i>   | <b>Marcador</b><br><i>Marker</i>                     | <b>Nº pase</b><br><i>Passage n</i> | <b>Resultado</b><br><i>Results</i>    | <b>Comentarios</b><br><i>Comments</i> |
| <p><b>Cuerpos embrioides</b><br/><i>Embryoid bodies</i></p>  |  |  |                                    |                                       |                                       |
|  | <b>Ectodermo</b>   | Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry, Tuj1, p13, +  |                                    |                                       | <i>Ectoderm</i>                       |
|  | <b>Mesodermo</b>   | Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry, SMA, p13, +   |                                    |                                       | <i>Mesoderm</i>                       |
|  | <b>Endodermo</b>   | Inmunocitoquímica/Immunocytochemistry, FOXA2, p13, + |                                    |                                       | <i>Endoderm</i>                       |
| <b>Test de diferenciación in vivo</b><br><i>In vivo differentiation test</i>   | <b>Método</b><br><i>Method</i>   | <b>Marcador</b><br><i>Marker</i>                     | <b>Nº pase</b><br><i>Passage n</i> | <b>Resultado</b><br><i>Results</i>    | <b>Comentarios</b><br><i>Comments</i> |
| <p><b>Teratomas</b><br/><i>Teratomas</i></p>   |  |  |                                    |                                       |                                       |
|  | <b>Ectodermo</b>   |  |                                    |                                       | <i>Ectoderm</i>                       |
|  | <b>Mesodermo</b>   |  |                                    |                                       | <i>Mesoderm</i>                       |
|  | <b>Endodermo</b>   |  |                                    |                                       | <i>Endoderm</i>                       |

|  |   |
|--|---|
| <b>Cariotipo (pase)</b><br><i>Karyotype (passage)</i>  | Cariotipo normal masculino: [46, XY] en el pase 13 (ver anexo)<br>Normal male karyotype: [46, XY] at passage 13 (see annex) |
| <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> | Sí (ver anexo)<br>Yes (see annex)   |
| <b>Test de integración)</b><br><i>Integration Test)</i>  |   |
| <b>Test de silenciamiento)</b><br><i>Silencing Test)</i>   | RT-PCR tras 11 pases (ver anexo)<br>RT-PCR after 11 passages (see annex)  |
| <b>Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen</b><br><i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>   | Sí (see anexo)<br>Yes (see annex)   |
| <b>Test de micoplasma</b><br><b><i>Mycoplasma Test</i></b>   | Luminiscencia, Negativo<br>Luminiscence, Negative   |

**SECCIÓN 3**  
*Section 3*

**DATOS DEL DEPOSITANTE**  
*Applicant Details*

|   |  |
|---|--|
| <b>Investigador Principal:</b><br><i>Principal Investigator:</i><br>Carmen Espinós Armero       | <b>Dirección Postal:</b><br><i>Postal address:</i><br>c/Eduardo Primo Yufera 3, Valencia 46012 |
| <b>Centro de Trabajo:</b><br><i>Institution:</i><br>FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe | <b>Teléfono (phone):</b> +963289680<br><b>Fax:</b><br><b>E-mail:</b> cespinos@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)*

## 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><br><i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i><br><i>Legal Representative of the Department/Centre</i><br><br>Deborah J. Burks<br><br><p style="text-align: right;">Fecha/ Date:</p> 03/02/2022 | <b>Firma del Investigador Principal</b><br><i>Signature of the Principal Investigator</i><br><br>Carmen Espinós Armero<br><br><p style="text-align: right;">Fecha /Date</p> 03/02/2022 |
| <b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b><br><i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i><br>Dra. Deborah J. Burks, Directora   |  |
| <b>Dirección Postal:</b><br><i>Postal Address:</i><br><br>FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe<br>C/ Eduardo Primo Yufera 3<br>46012 Valencia   | <b>Teléfono /Telephone:</b> ++34963289680<br><br><b>Fax:</b><br><br><b>E-mail:</b>   |

|   |   |
|---|---|
| <b>Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación</b><br><br><i>Signature of the responsible for the iPSC generation/</i><br><i>Generation center</i><br><br>Slaven Erceg Vukicevic<br><br><p style="text-align: right;">Fecha/ Date:</p> 03/02/2022 |   |
| <b>Nombre y Cargo del responsable de la generación:</b><br><i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Slaven Erceg Vukicevic, Director de Banco Nacional de Líneas Celulares, Nodo de Valencia   |   |
| <b>Dirección Postal:</b><br><i>Postal Address:</i><br><br>FCV Centro de Investigación Príncipe Felipe<br>C/ Eduardo Primo Yufera 3<br>46012 Valencia  | <b>Teléfono /Telephone:</b> ++34963289680<br><br><b>Fax:</b><br><br><b>E-mail:</b> serceg@cipf.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> 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>