

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: 07/06/2024

#### 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 iPSC 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>	SYS FiPS68-mR6F-3
<b>Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)</b>	
<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 de biopsia de piel abdominal. <i>Fibroblasts from abdominal skin.</i>
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino, 6 <i>Female, 6</i>
<b>¿El donante tiene alguna patología?</b> <i>Has the donor any pathological</i>	<b>NO</b> <input type="checkbox"/> <i>No</i> <b>SÍ</b> <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Schaaf-Yang syndrome <i>Yes (specify)</i>

condition?	
<b>¿La patología es de origen genético?</b> <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	<b>NO</b> <input type="checkbox"/> <b>SÍ</b> <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) <i>MAGEL2 c.1996dupC; p.Gln666Profs*47</i> <i>No</i> <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>	15/11/2016
<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	01/03/2021
<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>	<p>La huella genética de los fibroblastos se analizó mediante microsatélites (Anexo 1).</p> <p><i>The genetic fingerprint of the fibroblasts was analyzed using microsatellites (Annex 1).</i></p>
<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)</i> <i>Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	<p>Se utilizó el kit de reprogramación StemRNA 3rd Gen (Stemgent®) para establecer las líneas de iPSC transfectando un cóctel de ARN que contiene ARNm de reprogramación no modificados (OCT4, SOX2, KLF4, cMYC, NANOG y LIN28 (OSKMNL)), ARNm de evasión inmune (E3, K3, B18) y microARN bicatenarios del grupo 302/367 en fibroblastos.</p> <p><i>The StemRNA 3rd Gen Reprogramming Kit (Stemgent®) was used to establish the iPSCs lines by transfecting an RNA cocktail containing non-modified reprogramming mRNAs (OCT4, SOX2, KLF4, cMYC, NANOG and LIN28 (OSKMNL)), immune evasion mRNAs (E3, K3, B18) and double-stranded microRNAs from the 302/367 cluster into fibroblasts.</i></p>
<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>	<p>Las colonias se recogieron y se sembraron en placas de 4 pocillos recubiertas con laminina en medio mTeSR Plus™. Las células se pasaron usando TrypLE™ Select Enzyme (ThermoFisher Scientific) a placas de 6 pocillos recubiertas con Matrigel (Corning, Inc.) para la expansión, el medio se complementó con inhibidor de Rock (Y-27632) (StemCell Technologies) durante 24 horas después de cada pase.</p> <p><i>Colonies were picked and plated in laminin-coated 4-well plates in mTeSR Plus™ medium. Cells were passaged using TrypLE™ Select Enzyme (ThermoFisher Scientific) to 6-well plates coated with Matrigel (Corning, Inc.) for expansion, medium was supplemented with Rock inhibitor (Y-27632) (StemCell Technologies) for 24 hours after every passage.</i></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>La criopreservación de colonias se ha realizado en FBS(90%) + DMSO(10%), mediante contenedor de isopropanol a -80°C. Los viales se han descongelado a temperatura ambiente.</p> <p><i>Cryopreservation of colonies was carried out in FBS (90%) + DMSO (10%), using an isopropanol container at -80°C. The vials have been thawed at room temperature.</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>7</p>
<p><b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b>  <i>Has the line been genetically modified?</i></p>	<p><b>Sí</b> Yes <input type="checkbox"/>    <b>No</b> 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

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>
<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>	<b>Oct 4</b>	ICC	12	+	
	<b>Nanog</b>	ICC	12	+	
	<b>Sox 2</b>	ICC	12	+	
	<b>SSEA3</b>				
	<b>SSEA4</b>	ICC	12	+	
	<b>TRA-1-60</b>				
	<b>TRA-1-81</b>	ICC	12	+	
	<b>Fosfatasa. Alk</b>				
Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i>	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>
<p><b>Cuerpos embrioides</b> <i>Embryoid bodies</i></p>	<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	ICC	TUJ1	9	+
	<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	ICC	AFP	9	+
	<b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i>	ICC	α-SMA	9	+
	<i>Ver Anexo 2</i>				
Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>
<p><b>Teratomas</b> <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> <i>Karyotype (passage)</i>	<p>46, XX; pase 8 (Anexo 3)</p> <p><i>46, XX; passage 8 (Annex 3)</i></p>
<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>	<p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada. (Anexo 1).</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 1).</i></p>
<b>Test de integración)</b> <i>Integration Test)</i>	<p>No procede, ya que se ha usado una metodología no integrativa basada en la transfección de RNA.</p> <p><i>Not required, since the methodology used was non integrative and based on transfection of RNA</i></p>
<b>Test de silenciamiento)</b> <i>Silencing Test)</i>	<p>No procede, ya que se ha usado una metodología no integrativa basada en la transfección de RNA.</p> <p><i>Not required, since the methodology used was non integrative and based on transfection of RNA</i></p>
<b>Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen</b> <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	<p>La presencia de la mutación de las células de origen fue confirmada en las iPSCs generadas mediante secuenciación Sanger (Anexo 4).</p> <p><i>The presence of the mutation of the original cells was confirmed in the generated iPSCs by Sanger sequencing (Annex 4).</i></p>
<b>Test de micoplasma</b> <b><i>Mycoplasma Test</i></b>	<p>Negativo por PCR (Anexo 5)</p> <p><i>Negative by PCR (Annex 5)</i></p>

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

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i>  Susanna Balcells Comas	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i>  Dpt. Genètica, Microbiologia I Estadística 3er pis edifici Prevosti Facultat Biologia, UB Av. Diagonal, 643 08028 Barcelona
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i>  Universitat de Barcelona	<b>Teléfono (phone):</b> 93 4035418  <b>Fax:</b> 93 4034420  <b>E-mail:</b> sbalcells@ub.edu

## **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> <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:	Fecha /Date:
<b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i>  Jordi García Fernández, Vicerecto de Recerca Universitat de Barcelona	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i>  Edifici Històric, Pati Ciències 1er pis Gran Via de les Corts Catalanes, 585 08007 Barcelona	<b>Teléfono /Telephone:</b> 93 4035512  <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> vr.recerca@ub.edu g.recerca@ub.edu

<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:	
<b>Nombre y Cargo del responsable de la generación:</b> <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i>  Susanna Balcells Comas	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i>  Dpt. Genètica, Microbiologia I Estadística 3er pis edifici Prevasti Facultat Biologia, UB Av. Diagonal, 643 08028 Barcelona	<b>Teléfono /Telephone:</b> 93 4035418  <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> sbalcells@ub.edu



## **(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.

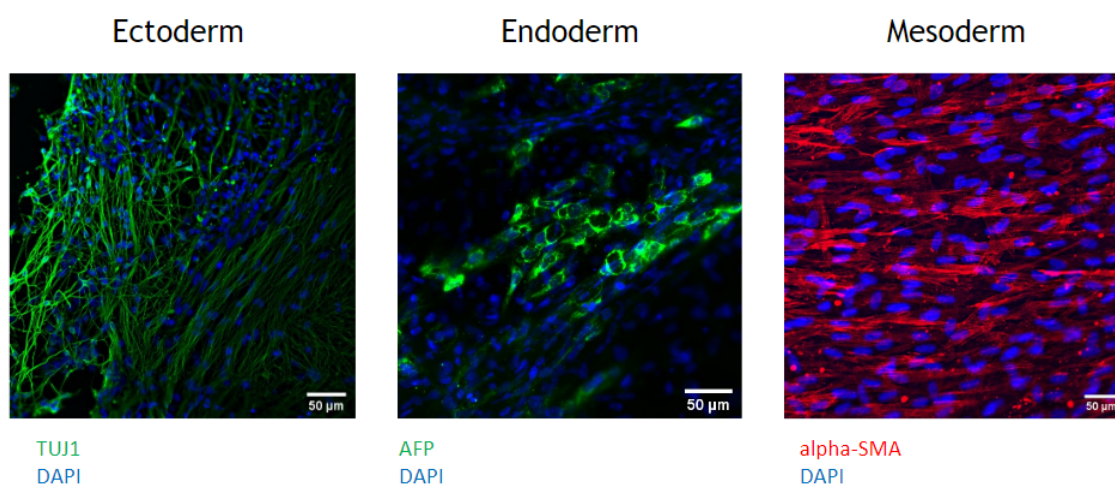
Registro de líneas:

- 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>

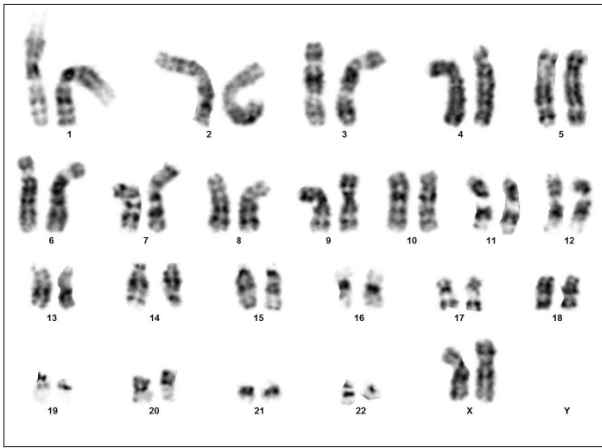
**ANEXO X:** Análisis de microsatélites

STR	Size range	iPSC	Fibroblast
AMEL	104-112 bps	103.9/103.9	103.86/103.86
CSF1PO	312-361 bps	333.52/341.58	332.93/340.89
D13S317	166-204 bps	175.74/187.58	175.05/186.92
D16S539	258-310 bps	286.89/294.95	286.32/294.32
D18S51	279-364 bps	298.85/298.85	298.43/298.43
D21S11	195-262 bps	219.23/223.23	218.56/222.52
D5S818	108-158 bps	134.62/134.62	133.72/133.72
D8S1179	198-252 bps	230.08/234.09	229.98/233.96
FGA	305-466 bps	337.25/341.46	337.16/341.27
Penta D	365-448 bps	417.69/417.69	417.58/417.58
Penta E	368-480 bps	423.44/433.87	422.86/433.36
TH01	148-194 bps	173.73/176.69	173.07/176.04
TPOX	255-303 bps	268.92/268.92	268.84/268.84
vWA	120-184 bps	142.1/150.23	142.03/150.15

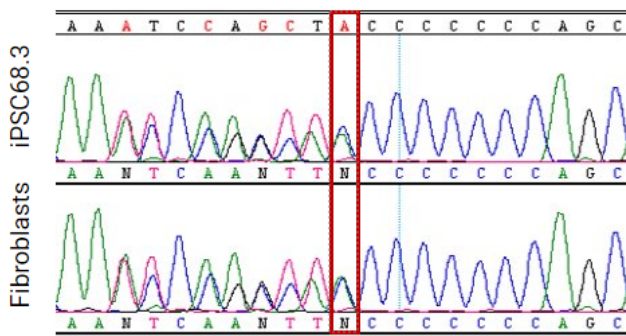
**ANEXO X:** Test de diferenciación in vitro



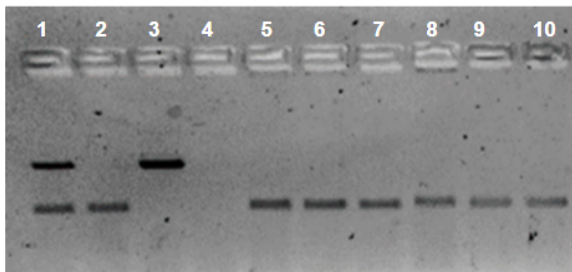
**ANEXO X:** Cariotipo



**ANEXO X: Genotipado**



**ANEXO X: Test de micoplasma**



- 1. IAC+PC
- 2. IAC
- 3. C+
- 4. C-
- 8. SYS FiPS68-mR6F-3