

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: 20/03/206

#### 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> <i>Name of the iPSC line:</i>	MAFLD PBiPS-AB2306-Sv4F-1
<b>Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)</b>	ESi166-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>	Células mononucleadas de sangre periférica (PBMCs)  Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs)
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	Mujer, 46 años  Woman, 46 years old
<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) Enfermedad hepática asociada con disfunción metabólica (MASLD) / Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) <i>No</i> <i>Yes</i> ( <i>specify</i> )
<b>¿La patología es de origen</b>	

<b>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) Homozygous for the MAFLD-associated SNP rs738409 (PNPLA3) C>G. <i>No</i> <i>Yes</i> ( <i>specify</i> )
<b>Muestra biológica recibida</b> <i>Biological sample</i>	<b>Fresco</b> <input type="checkbox"/> <b>Crioconservado</b> <input checked="" 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>	23 de noviembre de 2023 November 23th, 2023
<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	26 de junio de 2024 June 26th, 2024
<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 Annex 4 D8S1179      13      15 D21S11      30      30,2 D7S820      7      8 CSF1PO      12      12 D3S1358      17      18 TH01      6      7 D13S317      11      13 D16S539      12      13 D2S1338      17      25 D19S433      13      15 VWA    18      18 TPOX    10      11 D18S51      15      16 D5S818      11      12 FGA      21      25 AMELOGENINA*      X      X
<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>	Generación de las células de pluripotencia inducida (iPSC) a partir de células mononucleadas de sangre periférica mediante el kit de reprogramación CytoTune®-iPS 2.0 Sendai, un sistema no integrativo que utiliza vectores del virus Sendai. Este kit incluye tres vectores: policistrónico Klf4-hOct3/4-Sox2, cMyc y Klf4.  Generation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) from peripheral blood mononuclear cells using the CytoTune®-iPS 2.0 Sendai Reprogramming Kit, a non-integrative system that employs Sendai virus vectors. This kit includes three vectors: a polycistronic Klf4-hOct3/4-Sox2 vector, c-Myc, and Klf4.
<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>	Desde el momento de la transducción, las iPSCs se han adaptado progresivamente al medio mTeSR Plus, en placa de 6 con recubrimiento de laminina a 10 µg/ml, adaptándolas progresivamente a un recubrimiento de 5 µg/ml de laminina. Los pases se han realizado con ReleSR (1 min con ReleSR, aspirar, 5 min a 37°C sin medio, y añadir 1 ml de mTeSR Plus para recogerlas), sin rock inhibitor.  From the moment of transduction, the iPSCs have been progressively adapted to the mTeSR Plus medium, in a 6-well plate coated with laminin at 10 µg/ml, gradually adapting them to a coating of 5 µg/ml laminin. Passaging was performed using ReleSR (1 min with ReleSR, aspirate, 5 min at 37°C without medium, then add 1 ml of mTeSR Plus to collect the cells), without rock inhibitor.

<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 congelación de los clumps de colonias se ha realizado en CryoStor® CS10, mediante contenedor de isopropanol a -80°C (1°C/min.). Los viales se han descongelado a 37°C mediante descongelación rápida.</p> <p>The colony clumps were cryopreserved in CryoStor® CS10 using an isopropanol container at -80°C (1°C/min). The vials were thawed at 37°C by rapid thawing.</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>P13</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>	Immunocytochemistry	P9	+	Annexo 1/ Annex 1
	<b>Nanog</b>	Immunocytochemistry	P9	+	Annexo 1/ Annex 1
	<b>Sox 2</b>	Immunocytochemistry	P9	+	Annexo 1/ Annex 1
	<b>SSEA3</b>	Immunocytochemistry	P9	+	Annexo 1/ Annex 1
	<b>SSEA4</b>	Immunocytochemistry	P9	+	Annexo 1/ Annex 1
	<b>TRA-1-60</b>	Immunocytochemistry	P9	+	Annexo 1/ Annex 1
	<b>TRA-1-81</b>	Immunocytochemistry	P9	+	Annexo 1/ Annex 1
	<b>Fosfatasa. Alk</b>	Activity	P9	+	Annexo 1/ Annex 1
<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> <i>Ectoderm</i>	Immunocytoc. TUJ1/GFAP	P13	+/+	Annexo 2 / Annex 2
	<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	Immunocytoc. ASMA/GATA4	P13	+/+	Annexo 2 / Annex 2
	<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>	Immunocytoc. AFP/FOXA2	P13	+/+	Annexo 2 / Annex 2
<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 (passage)</i>	46, XX (P11) (Anexo 3 / Annex 3)																																																
<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>	See Annex 4 <table border="0"> <tr> <td>D8S1179</td> <td>13</td> <td>15</td> <td>D21S11</td> <td>30</td> <td>30,2</td> </tr> <tr> <td>D7S820</td> <td>7</td> <td>8</td> <td>CSF1PO</td> <td>12</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>D3S1358</td> <td>17</td> <td>18</td> <td>TH01</td> <td>6</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>D13S317</td> <td>11</td> <td>13</td> <td>D16S539</td> <td>12</td> <td>13</td> </tr> <tr> <td>D2S1338</td> <td>17</td> <td>25</td> <td>D19S433</td> <td>13</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>VWA 18</td> <td>18</td> <td></td> <td>TPOX</td> <td>10</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>D18S51</td> <td>15</td> <td>16</td> <td>D5S818</td> <td>11</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>FGA</td> <td>21</td> <td>25</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> AMELOGENINA*      X      X	D8S1179	13	15	D21S11	30	30,2	D7S820	7	8	CSF1PO	12	12	D3S1358	17	18	TH01	6	7	D13S317	11	13	D16S539	12	13	D2S1338	17	25	D19S433	13	15	VWA 18	18		TPOX	10	11	D18S51	15	16	D5S818	11	12	FGA	21	25			
D8S1179	13	15	D21S11	30	30,2																																												
D7S820	7	8	CSF1PO	12	12																																												
D3S1358	17	18	TH01	6	7																																												
D13S317	11	13	D16S539	12	13																																												
D2S1338	17	25	D19S433	13	15																																												
VWA 18	18		TPOX	10	11																																												
D18S51	15	16	D5S818	11	12																																												
FGA	21	25																																															
<b>Test de integración)</b> <i>Integration Test)</i>	No procede, debido a que se trata un método no-integrativo  Not applicable, due to non-integrating reprogramming methodology																																																
<b>Test de silenciamiento)</b> <i>Silencing Test)</i>	El análisis mediante RT-PCR mostró la ausencia de mRNA derivado de virus Sendai en la línea de iPSC y la presencia de mRNA derivado de virus Sendai en la línea iPS-AB2306 en el pase 9 (Anexo 5).  RT-PCR analysis showed the absence of Sendai virus-derived mRNA in the iPSC line and the presence of Sendai virus-derived mRNA in the iPS-AB2306 line at passage 9 (Annex 5).																																																
<b>Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen</b> <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	No analizado.  Not analyzed.																																																
<b>Test de micoplasma</b> <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo (Anexo 6)  Negative (Annex 6)																																																

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

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Joan Teichenné Jané	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Avinguda Universitat, 1, Reus (43204), Tarragona
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> Eurecat, Unitat de Nutrició i Salut	<b>Teléfono (phone):</b> +34 977 300 431 (EXT 4817) <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> joan.teichenne@eurecat.org

## **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 iPS fue generada por el investigador Joan Teichenné Jané a partir de PBMCs de una donante con enfermedad hepática grasa asociada a disfunción metabólica (MAFLD), homocigota para el SNP rs738409 (PNPLA3) C>G, asociado a MAFLD.

La finalidad de esta línea es desarrollar modelos celulares hepáticos derivados de una paciente con MAFLD, bajo la hipótesis de que dichos modelos presentarán una mayor propensión a recapitular características asociadas al hígado graso.

#### **Otras observaciones o información relevantes** (a rellenar por el BNLC):

*Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)*

This iPS line was generated by the researcher Joan Teichenné Jané from PBMCs of a donor with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD), homozygous for the MAFLD-associated SNP rs738409 (PNPLA3) C>G.

The purpose of this line is to develop hepatic cellular models derived from a patient with MAFLD, under the hypothesis that these models will show a greater propensity to recapitulate features associated with fatty liver.

## 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.*

<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> Sara Gómez de Pedro, directora de la Unidad de Nutrició i Salut de Eurecat	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i> Avinguda Universitat, 1, Reus, 43204	<b>Teléfono /Telephone:</b> +34 977 300 431   EXT 4891 <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> sara.gomez@eurecat.org

<b>Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación</b> <i>Signature of the responsible for the iPSC generation/</i> <i>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> Joan Teichenné Jané, Investigador de la Unidad de Nutrició i Salut de Eurecat	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i> Avinguda Universitat, 1, Reus, 43204	<b>Teléfono /Telephone:</b> +34 977 300 431 (EXT 4817) <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> joan.teichenne@eurecat.org

## **(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>