

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 Octubre de 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 PR-04-2015**

#### 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>	HLA98-MiPS4F15
<b>Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)</b>	ESi092-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 mononucleares de sangre periférica (PBMCs) obtenidas por venopunción en brazo.  Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) obtained by venipuncture in the arm.
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	Hombre (male)      23
<b>¿El donante tiene alguna patología?</b> <i>Has the donor any pathological condition?</i>	<b>NO</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>SÍ</b> <input type="checkbox"/> (especificar) <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(specify)</i>
<b>¿La patología es de origen genético?</b> <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	<b>NO</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>SÍ</b> <input type="checkbox"/> (especificar) <i>No</i> <i>Yes</i> <i>(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>	2 de Marzo de 2022 2nd of March, 2022
<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	-
<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>	Ver Anexo 1 See Annex 1  TH01 7, 9 D21S11 30 D5S818 12, 13 D13S317 8, 9 D7S820 11 D16S539 11 CSP1PO 10, 12 AMEL X, Y vWA 14, 16 TPOX 9, 11
<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>	Reprogramación no integrativa. Los factores de Yamanaka (hOCT3/4, hSOX2, hc-Myc y hKLF4) fueron transducidos usando virus no integrativos (Sendai Virus).  Non-integrative reprogramming. Yamanaka factors (hOCT3/4, hSOX2, hc-Myc and hKLF4) were transduced using non-integrative viruses (Sendai Virus).
<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>	Una vez transducidas con los vectores de reprogramación, las células fueron sembradas en Laminina 521 (Biolaminin-521, Biolamina) y adaptadas progresivamente al medio de cultivo de células pluripotentes mTeSR Plus (Stem Cell Technologies). Las células se mantuvieron a 37°C, 21%O2, 5%CO2, realizándole un pase semanal. Los primeros 8 pases se realizaron de forma manual, eligiendo colonias con morfología típica de células pluripotentes. Tras el pase 8, las células se comenzaron a pasar de manera semanal en un ratio 1:10, usando TrypLE Select (Gibco) y añadiéndoles 10uM de Y-27632 durante las 16h posteriores al pase.  Once transduced with the reprogramming vectors, the cells were seeded on Laminin 521 (Biolaminin-521, Biolamina) and progressively adapted to mTeSR Plus pluripotent cell culture medium (Stem Cell Technologies). The cells were kept at 37°C, 21%O2, 5%CO2, performing a weekly passage. The first 8 passages were carried out manually, choosing colonies with typical morphology of pluripotent cells. After passage 8, cells were passaged weekly at a 1:10 ratio, using TrypLE Select (Gibco) and adding 10uM Y-27632 for 16h after passage.

<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>Cada criovial contiene las células de un pocillo semi-confluyente de una placa 6-well. Las células congeladas vienen de cultivos sobre Laminin 521 y usando mTeSR Plus como medio. Las células se congelaron en una solución de criopreservación que contiene un 60% de mTeSR Plus, un 30% de Knockout Serum Replacement (KOSR) y un 10% de dimetilsulfóxido (DMSO). Una vez recogidas y resuspendidas en la solución de criopreservación, los viales con las células fueron congelados durante 24h a una velocidad controlada en contenedores de isopropanol (Mr Frosty, Thermo Scientific) almacenados a -80°C. A las 24h, los viales congelados fueron transferidos a tanques de nitrógeno líquido, donde permanecieron almacenados.</p> <p>Each cryovial contains cells from a semi-confluent well of a 6-well plate. Frozen cells come from cultures on Laminin 521 and using mTeSR Plus as medium. Cells were frozen in a cryopreservation solution containing 60% mTeSR Plus, 30% Knockout Serum Replacement (KOSR), and 10% dimethyl sulfoxide (DMSO). Once collected and resuspended in the cryopreservation solution, the vials with the cells were frozen for 24h at a controlled rate in isopropanol containers (Mr Frosty, Thermo Scientific) stored at -80°C. At 24h, the frozen vials were transferred to liquid nitrogen tanks, where they remained stored.</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>12</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*

<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>	IF	10	+	Anexo 2	
	<b>Nanog</b>	IF	10	+	Anexo 2	
	<b>Sox 2</b>	IF	10	+	Anexo 2	
	<b>SSEA3</b>	FlowCyt	12	+	Anexo 3	
	<b>SSEA4</b>	FlowCyt	12	+	Anexo 3	
	<b>TRA-1-60</b>	FlowCyt	12	+	Anexo 3	
	<b>TRA-1-81</b>	-				
	<b>Fosfatasa. Alk</b>	BCIP-NBT	15	+	Anexo 4	
<b>Test de diferenciación in vitro</b> <i>In vitro differentiation test</i>	<b>Comentarios</b>	<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>	IF	PAX6 + TUJ20	12	+	Anexo 5
	<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	IF	aSMA	12	+	Anexo 5
	<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>	IF	AFP	12	+	Anexo 5
<b>Test de diferenciación in vivo</b> <i>In vivo differentiation test</i>	<b>Comentarios</b>	<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</i> <i>(passage)</i>	46, XY (17)  Ver Anexo 6 See Annex 6
<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>	Ver Anexo 1 See Annex 1  TH01        7, 9 D21S11     30 D5S818     12, 13 D13S317    8, 9 D7S820     11 D16S539    11 CSP1PO    10, 12 AMEL        X, Y vWA         14, 16
<b>Test de integración)</b> <i>Integration Test)</i>	-
<b>Test de silenciamiento)</b> <i>Silencing Test)</i>	Virus silenciado  Virus silenced  Ver Anexo 7 See Annex 7
<b>Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen</b> <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	-
<b>Test de micoplasma</b> <b><i>Mycoplasma Test</i></b>	Negativo Negative  Ver Anexo 8 See Annex 8

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

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Francisco J. Díaz Corrales	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Americo Vespucio 24, 41092 Sevilla, España
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> CABIMER	<b>Teléfono (phone):</b> 954467425 <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> francisco.diaz@cabimer.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):*

Esta línea iPS se generó por los investigadores Álvaro Plaza Reyes y Berta de la Cerda Haynes desde células mononucleares de sangre periférica de un donante sano con un perfil HLA frecuente en la población andaluza. La finalidad de esta línea es incorporarla a una posible colección de células iPS con perfiles HLA de interés para su futuro uso en terapias de reemplazo y medicina regenerativa.

Perfil HLA del donante: A23, B4403, C0401,09N, DR7, DQ02, DP11,13

This iPS line was generated by the researchers Álvaro Plaza Reyes and Berta de la Cerda Haynes from peripheral blood mononuclear cells of a healthy donor with a frequent HLA profile in the Andalusian population. The purpose of this line is to incorporate it into a possible collection of iPS cells with HLA profiles of interest for future use in replacement therapies and regenerative medicine.

Donor HLA profile: A23, B4403, C0401,09N, DR7, DQ02, DP11,13

**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> Gonzalo Balbotín Casillas (Director Gerente)	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i> Fundación Progreso y Salud Avenida Americo Vespucio, 15 41092, Sevilla	<b>Teléfono /Telephone:</b> 955040450 <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> fundacion.progreso.salud@juntadeandalucia.es

<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> Álvaro Plaza Reyes (Investigador Postdoctoral)	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i> CABIMER, Grupo MR3 Americo Vespucio, 24 41092, Sevilla	<b>Teléfono /Telephone:</b> 954467425 <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> alvaro.plaza@cabimer.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>