

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: 18/02/2026

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** PT23/00174

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 <i>Name of the iPSC line:</i>	PV-PBiPS1-SV4F-4
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)	BBSSPAi003-A
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 <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. Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs).
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino, 54 años Female, 54 years old
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Policitemia vera/Polycythemia vera No Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) JAK2 V617F No Yes (specify)

<i>genetic origin?</i>	
Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco <input checked="" type="checkbox"/> <i>Fresh</i> Crioconservado <input type="checkbox"/> <i>Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i>	06/03/2025
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	06/03/2025
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR/otros marcadores de las células de origen <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR/ other markers of the original cells.</i>	<p>La caracterización de las muestras de PBMC de origen se llevó a cabo mediante el análisis genético de 16 marcadores STRs: D8S1179, D21S11, D7S820, CSP1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, AMEL (marcador sexual), D5S818 y FGA. Para ello, se utilizó el kit de amplificación CLA Identifiler Plus (Applied Biosystems), el analizador de fragmentos SeqStudio y el Software de análisis GeneMapper IDX. ANEXO 4.</p> <p>The characterization of the PBMC sample was carried out through the genetic analysis of 16 STRs markers: D8S1179, D21S11, D7S820, CSP1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, AMEL (sex marker), D5S818 and FGA. The amplification kit CLA Identifiler Plus (Applied Biosystems), the SeqStudio fragment analyzer, and the analysis Software GeneMapper ID-X were used. ANNEX 4.</p>
Método utilizado en la generación de la línea iPSC. (Integrativa/ No-integrativa) Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados. <i>Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative)</i> <i>Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	<p>Las iPSCs fueron generadas con el kit de reprogramación CytoTune®-iPS 2.0 Sendai (Life Technologies), un sistema no integrativo basado en vectores del virus Sendai. Este kit incluye tres vectores: policistrónico Klf4-hOct3/4-Sox2, cMyc y Klf4.</p> <p>The iPSCs were generated with the CytoTune®-iPS 2.0 Sendai Reprogramming Kit (Life Technologies), a non-integrating system based on Sendai virus vectors. This kit includes three vector preparations: polycistronic Klf4-hOct3/4-Sox2, cMyc, and Klf4.</p>
Condiciones de cultivo de la línea de iPSC generada. (si se describen en publicación, indicar referencia) <i>iPSC Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>	<p>Las iPSCs fueron mantenidas y expandidas en medio de cultivo definido: mTeSR1™ 1 completo (STEMCELL Technologies). El sustrato de crecimiento fue matrigel 1:15 diluido en KNOCKOUT DMEM: Matrigel: Matrix basement Membrane (CORNING BV). El pase se realizó de forma manual en los primeros pases y mecánico - enzimático a partir del pase 6, utilizando como enzima: DPBS-EDTA 1:1000, incubando durante 1 minuto a 37°C.</p> <p>The iPSc were maintained and expanded in defined culture medium: Complete mTeSR1™ Medium (STEMCELL Technologies). The growth substrate was matrigel 1:15 diluted in KNOCKOUT DMEM: Matrigel: Matrix basement Membrane (CORNING BV) The passage was carried out manually at the beginning and mechanical - enzymatically from the passage 6, using the enzyme: DPBS-EDTA 1:1000, for 1 minute at 37°C.</p>
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	<p>La congelación de los clumps de colonias se realizó en medio de congelación Cryostor CS10 mediante congelación lenta en contenedor de CoolCell a -80°C (1°C/min.) durante 24h, y posteriormente los viales fueron almacenados en tanques de nitrógeno en fase gaseosa a -196°C. La descongelación se realiza en baño térmico a 37°C mediante descongelación rápida 2 min. Cada criovial contiene las células de un flask T25 al 70-80% de confluencia.</p> <p>The freezing of the colony clumps was carried out in Cryostor CS10 freezing medium by slow freezing in a CoolCell container at -80°C (1°C/min.) for 24h,</p>

	<p>and subsequently the vials were stored in gas phase nitrogen tanks at -196°C. Defrosting is carried out in a thermal bath at 37°C through rapid defrosting for 2 min. Each cryovial contains cells from one flask T25 at 70-80% confluence.</p>
<p>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15) <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>Pase 11</p> <p>Passage 11</p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <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

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>		
Se informará de al menos 5 de los siguientes marcadores <i>At least 5 of the following test will be reported</i>	Oct 4	RT-PCR	P 11	+	ANEXO1/ANNEX 1	
	Nanog	RT-PCR	P 11	+	ANEXO1/ANNEX 1	
	Sox 2	RT-PCR	P 11	+	ANEXO1/ANNEX 1	
	Tert	RT-PCR	P 11	+	ANEXO1/ANNEX 1	
	SSEA3	CITOMETRÍA	P12	+	ANEXO1/ANNEX1	
	SSEA4	CITOMETRÍA	P12	+	ANEXO1/ANNEX1	
	TRA-1-60	CITOMETRÍA	P12	+	ANEXO1/ANNEX1	
	TRA-1-81 Fosfatasa. Alk					
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>	
Cuerpos embrioides <i>Embryoid bodies</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	IF	TUJ1	P11	+	ANEXO2/ANNEX2
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	IF	ASM	P11	+	ANEXO2/ANNEX2
	Endodermo <i>Endoderm</i>	IF	AFP	P12	+	ANEXO2/ANNEX2
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>	
Teratomas <i>Teratomas</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>					
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>					
	Endodermo <i>Endoderm</i>					

Cariotipo (pase) <i>Karyotype (passage)</i>	46,XX 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 STRs de la línea iPSC generada: D8S1179, D21S11, D7S820, CSP1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, AMEL (marcador sexual), D5S818 y FGA, coinciden con los de las células mononucleadas de sangre periférica iniciales. ANEXO 4. STR markers in the generated iPSC: D8S1179, D21S11, D7S820, CSP1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, AMEL (sexual marker), D5S818 and FGA, are identical to the markers of the initial Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs). ANNEX 4.
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	No procede al tratarse de un método no integrativo. Not applicable due to a non-integrating reprogramming methodology.
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	Se ha comprobado la ausencia del Sendai virus del genoma de las células mediante RT_PCR de los factores exógenos de reprogramación y del gen que codifica para la cápside del virus (SeV). ANEXO 5. The absence of the Sendai virus from the genome of the cells has been verified by RT_PCR for the exogenous reprogramming factors and the gene corresponding to the virus capsid (SeV). ANNEX 5.
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	No detectada la mutación JAK2 V617F en la línea iPSC mediante amplificación génica e hibridación con sondas FRET. JAK2 V617F mutation was not detected in the iPSC line by gene amplification and hybridization with FRET probes.
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR. Negative by PCR. ANEXO 6/ANNEX 6

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

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Rocío Aguilar Quesada	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Avda. del Conocimiento s/n, 18016, Granada, Spain
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, Nodo Coordinador	Teléfono (phone): +34 958894654 Fax: E-mail: rocio.aguilar.quesada@juntadeandalucia.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.

Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>Legal Representative of the Department/Centre</i> Gonzalo Balbontin Casillas Fecha/ Date:	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i> Rocío Aguilar Quesada Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Gonzalo Balbontín Casillas, Director Gerente Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud M.P.	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Avda. Américo Vespucio nº15. Edificio S-2 41092 Sevilla	Teléfono /Telephone: +34 955040450 Fax: E-mail: gestionproyectos.fps@juntadeandalucia.es

Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación <i>Signature of the responsible for the iPSC generation/ Generation center</i> Purificación Catalina Carmona Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, Nodo Coordinador Fecha/ Date:	
Nombre y Cargo del responsable de la generación: <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Purificación Catalina Carmona, Investigadora	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Avda. del Conocimiento s/n, 18016, Granada, Spain	Teléfono /Telephone: +34 958894655 Fax: E-mail: purificacion.catalina@juntadeandalucia.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>