

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: 23-09-2024

#### 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** DTS21/00086

#### 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>	PRPF3181-MiPS4F5
<b>Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)</b>	ESi132-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>	Monocitos (PBMCs) de sangre periférica obtenida por venopunción. Peripheral blood monocytes (PBMCs) obtained by venopuncture.
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	mujer (female) 43
<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) RETINITIS PIGMENTOSA <i>No Yes (specify)</i>
<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) PRPF31 <i>No Yes (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>	25/01/2023
<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	02/03/2023
<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 ANEXO 3 D8S1179 10, 13 D21S11 30, 31 D7S820 9, 11 CSP1PO 11, 12 D3S1358 14, 18 TH01 7, 9 D13S317 11 D16S539 11, 12 D2S1338 17 D19S433 12, 15.2 vWA 16, 18 TPOX 10, 11 D18S51 13, 14 AMEL X, X D5S818 11, 12 FGA 21
<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>	No integrativa. Los factores de Yamanaka (hOCT3/4, hSOX2, hc-MYC y hKLF4), fueron transducidos mediante virus no integrativo (Sendai virus). The reprogramming factors hOCT3/4, hSOX2, hc-MYC, and hKLF4 were transduced into the primary PBMCs via the non-integrative 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>	Las células iPS se prepararon y cultivaron sobre matrigel en medio mTeSRplus (Stemcell) y en un incubador estándar con pase manual hasta P8 y a partir de ahí con pase enzimático (dispasa) una vez por semana a un ratio 1:10. Esta es la condición de las células congeladas para banqueo. iPS cells were prepared and cultured onto matrigel in mTeSRplus (Stemcell) medium inside a standard incubator. Manually passaged until P8, afterwards, enzymatic passage (dispase) once a week at a 1:10 ratio. This is the condition of the frozen cells for banking.
<b>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación)</b> <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	Cada criovial contiene las células de un pocillo de una placa de 6-pocillos de iPSC cultivadas en medio mTeSRplus sobre matrigel. Las células se suspendieron en 1 mL de solución de congelación: 60% mTeSRplus, 30% knockout serum (KSR) y 10% de dimetilsulfóxido (DMSO). Inmediatamente se congelaron a una velocidad de enfriamiento lenta en un contenedor de isopropanol durante 24h a -80°C y posteriormente se almacenaron en un tanque de nitrógeno líquido. Each cryovial contains cells from one well of a 6-well plate, cultured in mTeSRplus medium on matrigel. Cells were suspended in 1 mL of freezing solution: 60% mTeSRplus, 30% knockout serum (KSR), and 10 % dimethyl sulfoxide (DMSO). They were immediately frozen at a slow cooling rate in an isopropanol container for 24 h at -80°C and subsequently stored in a liquid nitrogen tank.

<b>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro.</b> <b>(Máximo: Pase 15)</b> <i>Passage at the time of the banking/registration</i> <i>(Max: Passage 15)</i>	13
<b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b> <i>Has the line been genetically modified?</i>	<b>Sí</b> Yes <input type="checkbox"/> <b>No</b> No <input checked="" type="checkbox"/>  Especificar: <i>Specify:</i>

**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	9	+	ANEXO 5	
	<b>Nanog</b>	IF	9	+	ANEXO 5	
	<b>Sox 2</b>	IF	9	+	ANEXO 5	
	<b>SSEA3</b>	CYTOMETRY	10	+	ANEXO 6	
	<b>SSEA4</b>	CYTOMETRY	10	+	ANEXO 6	
	<b>TRA-1-60</b>	CYTOMETRY	10	+	ANEXO 6	
	<b>TRA-1-81</b>					
	<b>Fosfatasa. Alk</b>	ENZYMATIC ASSAY	9	+	ANEXO 5	
<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>	IF	TU-20 /PAX6/OTX2	12	+	ANEXO 8/9
	<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	IF	alpha-SMA	12	+	ANEXO 8
	<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>	IF	ISLET-1	12	+	ANEXO 8
<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</i> <i>(passage)</i>	46, X X, pase 13 X, X, passage 13 See anexo 2
<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 ANEXO 3
<b>Test de integración)</b> <i>Integration Test)</i>	-
<b>Test de  silenciamiento)</b> <i>Silencing Test)</i>	Virus silenciado. Virus silenced SEE ANEXO 4
<b>Confirmación de la  presencia de la  mutación de las  células de origen</b> <i>Confirmation of the  mutation in the original  cells</i>	SANGER SEQUENCING SEE ANEXO 1
<b>Test de micoplasma</b> <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo para micoplasma. Negative for Mycoplasma. SEE ANEXO 10

**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):*

La reprogramación y caracterización se llevó a cabo en CABIMER por Estefanía Caballano Infantes. El interés de esta línea se debe a su mutación, que se detalla en el Anexo 1.

The reprogramming and characterization was carried out in CABIMER by Estefanía Caballano Infantes. The interest of this line is due to its mutation in PRPF31 gene , which is detailed in Annex 1.

**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
	25.09.2024
<b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Gonzalo Balbontín 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> 955 04 04 50 <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> fundacion.progreso.salud@junta de andalucia.es

<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> Estefanía Caballano Infantes	
Fecha/ Date:	
<b>Nombre y Cargo del responsable de la generación:</b> <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Estefanía Caballano Infantes (Investigadora Postdoctoral)	
<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i> Americo Vespucio 24, 41092 Sevilla, España	<b>Teléfono /Telephone:</b> 954467425 <b>Fax:</b> <b>E-mail:</b> estefania.caballano@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>