

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 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>	SYS FiPS135-mR6F-5
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)	
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>	Fibroblastos de biopsia de piel abdominal. <i>Fibroblasts from abdominal skin biopsy</i>
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino, 13 <i>Female, 13</i>
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological</i>	NO ☒ SÍ ☐ (especificar) <i>No Yes (specify)</i>

condition?	
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO ☐ SÍ ☐ (especificar) <i>No Yes (specify)</i>
Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco ☒ Crioconservado ☐ <i>Fresh Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i>	Mayo 2019
Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i>	1 marzo 2021
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>	La huella genética de los fibroblastos se analizó mediante microsatélites (Anexo 1). <i>The genetic fingerprint of the fibroblasts was analyzed using microsatellites (Annex 1).</i>
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>	Se utilizó el kit de reprogramación StemRNA 3rd Gen (Stemgent®) para establecer las líneas de iPSC transfecando 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. <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>
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>	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. <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>

Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i>	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. <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>
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>	7
¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i>	Sí Yes ☐ No No ☒ 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

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	ICC	12	+	
	Nanog	ICC	12	+	
	Sox 2	ICC	12	+	
	SSEA3				
	SSEA4	ICC	12	+	
	TRA-1-60				
	TRA-1-81	ICC	12	+	
	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>	ICC	TUJ1	9	+
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	ICC	AFP	9	+
	Endodermo <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>
Teratomas <i>Teratomas</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>				
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>				
	Endodermo <i>Endoderm</i>				

Cariotipo (pase)) <i>Karyotype</i> <i>(passage))</i>	46, XX (Anexo 3) 46, XX (<i>Annex 3x</i>)
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 de microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada. (Anexo 1). <i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 1).</i>
Test de integración) <i>Integration Test)</i>	No procede, ya que se ha usado una metodología no integrativa basada en la transfección de RNA. <i>Not required, since the methodology used was non integrative and based on transfection of RNA</i>
Test de silenciamiento) <i>Silencing Test)</i>	No procede, ya que se ha usado una metodología no integrativa basada en la transfección de RNA. <i>Not required, since the methodology used was non integrative and based on transfection of RNA</i>
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen <i>Confirmation of the mutation in the original cells</i>	No procede <i>Not required</i>
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR (Anexo 4) <i>Negative by PCR (Annex 4)</i>

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

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

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.

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

Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación <i>Signature of the responsible for the iPSC generation/</i> <i>Generation center</i>	
Fecha/ Date:	
Nombre y Cargo del responsable de la generación: <i>Name and Position of the responsible for the iPSC generation</i> Susanna Balcells Comas	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Dpt. Genètica, Microbiologia I Estadística 3er pis edifici Prevosti Facultat Biologia, UB Av. Diagonal, 643 08028 Barcelona	Teléfono /Telephone: 93 4035418 Fax: E-mail: 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>