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: 9 octubre 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** PR-04-2015

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 *Name of the iPSC line:*	HLA89-MiPS4F8
Nº de registro en el Human Pluripotent Stem Cell Registry (1)	ESi110-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** *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.*	Monocitos (PBMCs) de sangre periférica obtenida por venopunción. Peripheral blood monocytes (PBMCs) obtained by venopuncture.
Sexo y edad del donante. *Sex and age of the donor*	hombre (male) 32
¿El donante tiene alguna patología? *Has the donor any pathological condition?*	**NO** ☒ *No* **SÍ** ☐ (especificar) *Yes (specify)*
¿La patología es de origen genético? *Is the pathological condition of genetic origin?*	**NO** ☒ *No* **SÍ** ☐ (especificar) *Yes (specify)*

Muestra biológica recibida *Biological sample*	**Fresco** ☒ *Fresh* **Crioconservado** ☐ *Cryopreserved*
Fecha de la donación de la muestra biológica *Date of donation of the biological sample*	8 junio 2022/ June 8th, 2022
Fecha del uso o descongelación *(si congelado)* *Date used or thawed (if frozen)*	-
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR/otros marcadores de las células de origen *Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR/ other markers of the original cells.*	See Anexo 3 AMEL X, Y CSF1PO 7, 11 D5S818 10, 11 D13S317 10, 14 D21S11 30 D16S539 11 D7S820 8, 11 TH01 7 TPOX 8, 9 vWA 14, 18
Método utilizado en la generación de la línea iPSC. (Integrativa/ No-integrativa) Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados. *Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative)* *Specify factors and plasmids used for reprogramming*	No integrativa. Los factores de Yamananka (hc-MYC y hKOS), fueron transducidos mediante virus no integrativo (Sendai virus). The reprogramming factors hc-MYC, and hKOS were transduced into the primary PBMCs via the non-integrative Sendai virus.
Condiciones de cultivo de la línea de iPSC generada. (si se describen en publicación, indicar referencia) *iPSC Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)*	Las células iPS se prepararon y cultivaron sobre laminina 521 (Biolamina) en medio mTeSR plus (Stemcell) y en un incubador estándar con pase manual hasta P8 y a partir de ahí con pase enzimático (TryplE) 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 laminin 521 (Biolamina) in mTeSRplus (Stemcell) medium inside a standard incubator. Manually passaged until P8, afterwars, enzymatic passage (TryplE) once a week at a 1:10 ratio. This is the condition of the frozen cells for banking.
Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) *Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)*	Cada criovial contiene las células de un pocillo de una placa de 6-pocillos de iPS cultivadas en medio mTeSRplus sobre laminina 521. 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 -80ºC 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 laminin 521. 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 -80ºC and subsequently stored in a liquid nitrogen tank.
Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15) *Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)*	12

¿Ha sido la línea modificada genéticamente? *Has the line been genetically modified?*	**Sí** *Yes* ☐ **No** *No* ☒ Especificar: *Specify*:

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 *Pluripotency test*		**Método** *Method*	**Nº pase** *Passage n.*	**Resultado** *Results*	**Comentarios** *Comments*
Se informará de al menos 5 de los siguientes marcadores *At least 5 of the following test will be reported*	**Oct 4**	IF	10	+	ANEXO 5
	Nanog	IF	10	+	ANEXO 5
	Sox 2	IF	10	+	ANEXO 5
	SSEA3	CYTOMETRY	13	+	ANEXO 7
	SSEA4	CYTOMETRY	13	+	ANEXO 7
	TRA-1-60	CYTOMETRY	13	+	ANEXO 7
	TRA-1-81				
	Fosfatasa. Alk	ENZYMATIC ASSAY	13	+	ANEXO 6

Test de diferenciación in vitro *In vitro differentiation test*		**Método** *Method*	**Marcador** *Marker*	**Nº pase** *Passage n*	**Resultado** *Results*	**Comentarios** *Comments*
Cuerpos embrioides *Embryoid bodies*	**Ectodermo** *Ectoderm*	IF	TUJ20, PAX6	13	+	ANEXO 8
	Mesodermo *Mesoderm*	IF	SMA	13	+	ANEXO 8
	Endoderm *Endoderm*	IF	AFP	13	+	ANEXO 8

Test de diferenciación in vivo *In vivo differentiation test*		**Método** *Method*	**Marcador** *Marker*	**Nº pase** *Passage n*	**Resultado** *Results*	**Comentarios** *Comments*
Teratomas *Teratomas*	**Ectodermo** *Ectoderm*					
	Mesodermo *Mesoderm*					
	Endodermo *Endoderm*					

Cariotipo (pase)) *Karyotype (passage))*	X Y, pase 13 X,Y, passage 13 See anexo 2
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*	See Anexo 3 AMEL X, Y CSF1PO 7, 11 D5S818 10, 11 D13S317 10, 14 D21S11 30 D16S539 11 D7S820 8, 11 TH01 7 TPOX 8, 9 vWA 14, 18
Test de integración) *Integration Test)*	-
Test de silenciamiento) *Silencing Test)*	Virus silenciado. Virus silenced See anexo 4
Confirmación de la presencia de la mutación de las células de origen *Confirmation of the mutation in the original cells*	-
Test de micoplasma ***Mycoplasma Test***	Negativo para Micoplasma. Negative for Mycoplasma. See anex 9

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE
Section 3 Applicant Details

Investigador Principal: *Principal Investigator:* Francisco J. Díaz Corrales	**Dirección Postal:** *Postal address:* Americo Vespucio 24, 41092 Sevila, España
Centro de Trabajo: *Institution:* CABIMER	**Teléfono** *(phone)***:** 954467425 **Fax:** **E-mail:** 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 Álvaro Plaza Reyes, Berta de la Cerda y Lourdes Valdés Sánchez. El interés de esta línea iPSC se debe a su haplotipo, que se detalla en el Anexo 1.
The reprogramming and characterizationof this cell line were carried out in CABIMER by Álvaro Plaza Reyes, Berta de la Cerda and Lourdes Valdés Sánchez.This iPSC line is interesting because of its haplotype, 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

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 *(Representante legal del Departamento/Centro)* *Legal Reprentative of the Department/Centre)* Fecha/ Date:	**Firma del Investigador Principal** *Signature of the Principal Investigator* DIAZ CORRALES FRANCISCO JAVIER - 29567255L Firmado digitalmente por DIAZ CORRALES FRANCISCO JAVIER - 29567255L Fecha: 2024.10.09 16:05:31 +02'00' Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: *Name and Position of the Person Representing the Centre:* Gonzalo Balbontín Casillas (Director Gerente)	
Dirección Postal: *Postal Address:* Fundación Progreso y Salud Avenida Americo Vespucio, 15 41092 Sevilla BALBONTIN CASILLAS GONZALO - 28733391C Firmado digitalmente por BALBONTIN CASILLAS GONZALO - 28733391C Fecha: 2024.10.15 14:09:53 +02'00'	**Teléfono /***Telephone***:** 955 04 04 50 **Fax:** **E-mail:** fundacion.progreso.salud@junta de andalucia.es

Firma del responsable de la generación de las iPSC/Centro de generación *Signature of the responsible for the iPSC generation/ Generation center* Berta de la Cerda/CABIMER Fecha/ Date: 09/10/2024	DE LA CERDA HAYNES BERTA - 27309906M Firmado digitalmente por DE LA CERDA HAYNES BERTA - 27309906M Fecha: 2024.10.09 13:58:29 +02'00'
Nombre y Cargo del responsable de la generación: *Name and Position of the responsible for the iPSC generation* Berta de la Cerda Haynes. Investigadora senior (Senior researcher)	
Dirección Postal: *Postal Address:* Americo Vespucio 24, 41092 Sevila, España	**Teléfono /***Telephone***:** 954467425 **Fax:** **E-mail:** berta.delacerda@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://hpscreg.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 <hpscreg-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 Intitution> 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