

BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES (TRONCALES)
National Bank of Stem Cell Lines
IMPRESO DE SOLICITUD DE REGISTRO Y DEPÓSITO DE UNA LÍNEA iPS HUMANA
Application Form to Register and to Deposit a human iPS cell line

FECHA: 08.04.2019

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 Ético 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 from the Principal Investigator

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 iPS <i>Name of the iPS line:</i>	BST PBiPS1-SV4F-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>	Células mononucleadas de sangre periférica <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>
Sexo y edad del donante. <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino, 52 años Female, 52 years
¿El donante tiene alguna patología? <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) No Yes (specify)
¿La patología es de origen genético? <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) No Yes (specify)

Muestra biológica recibida <i>Biological sample</i>	Fresco <input checked="" type="checkbox"/> Crioconservado <input type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>
Fecha de la donación de la muestra biológica <i>Date of donation of the biological sample</i> 26.09.2017	Fecha del uso o descongelación <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 26.09.2017
Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario). <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	Medio de cultivo/ Culture media: IMDM + 10%FBS + 0,5% Penicilin-Streptomycin (Gibco, InVitrogen corporation). 37°C- 5%CO2
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the original cells.</i>	Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5) <i>Microsatellite markers of the initial sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 5)</i>
¿Hay disponibilidad de viales congelados de las células de origen? ¿En qué pase? <i>Is there availability of frozen vials of original cells? At what passage?</i>	No
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) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	Generación de las células de pluripotencia inducida (iPSC) a partir de células mononucleadas de sangre periférica de un donante con fenotipo Vel negativo (mutación SMIM*64-80 del), con el kit de reprogramación CytoTune®-iPS 2.0 Sendai, un sistema no integrativo que utiliza vectores del virus Sendai. Este kit incluye tres vectores: policistrónico Klf4-hOct3/4-Sox2, cMyc y Klf4. <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from Peripheral Blood Mononuclear Cells from a donor with Vel negative phenotype (SMIM*64_80 del mutation) generated with the CytoTune®-iPS 2.0 Sendai Reprogramming Kit, a non-integrating system that uses Sendai virus vectors. This kit includes three vector preparations: polycistronic Klf4-Oct3/4-Sox2, cMyc, and Klf4.</i>
Condiciones de cultivo de la línea de iPSc generada. (si se describen en publicación, indicar referencia) <i>iPS Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>	Support: human foreskin fibroblasts (ATCC, American Type Culture Collection, CCD1112Sk), γ -irradiated. Culture medium: Knockout Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 2 mmol/l GlutaMAX (Gibco, InVitrogen corporation), 0,05mmol/l 2-mercaptoethanol (Gibco, InVitrogen corporation), 10 ng/ml basic fibroblast growth factor (bFGF) (Invitrogen), 1% non-essential amino acids (Cambrex), 20% Knockout Serum Replacement (InVitrogen) y 0,5% Penicillin-Streptomycin (Gibco, InVitrogen corporation). Support: Matrigel (Corning BV) Culture medium: mTeSR Basal Medium Kit (StemCell Technologies)
Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo (forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma; otros) <i>Description of the morphological</i>	Colonias grandes poligonales, ligeramente aplanadas, de un tamaño entre 1- 3 mm de diámetro de diversas formas con bordes lisos. Células de tamaño uniforme y una elevada relación núcleo/citoplasma. <i>Large and flat polygonal colonies, with uniformly sized cells of 1-3 mm of</i>

<p><i>characteristics of the line in culture (form and size of the colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</i></p>	<p><i>diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i></p>
<p>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación) <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p>	<p>La congelación de los clumps de colonias se ha realizado en FBS (90%) + DMSO (10%), mediante congelador programable (-0.5°C/min.) o mediante contenedor de isopropanol a -80°C (-1°C/min.). Los viales se han descongelado a 37°C mediante descongelación rápida.</p> <p><i>The clumps of colonies were cryopreserved in FBS (90%)+ DMSO (10%), by programmable freezer (-0.5°C/min.) or in isopropanol containers at -80°C (-1°C/min). Vials were thawed quickly at 37°C.</i></p>
<p>Pase de la línea celular en el momento del banco/registro. (Máximo: Pase 15) <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>Viales congelados a pases 3-9</p> <p>Frozen vials at passages 3-9</p>
<p>¿Ha sido la línea modificada genéticamente? <i>Has the line been genetically modified?</i> Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Comentarios/ Comments:</p>	<p>¿Se llevó a cabo un análisis clonal? <i>Has a clonal analysis been carried out?</i> Sí Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> Resultado / Result</p>

SECCIÓN 2 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE LA LÍNEA iPS.

Adjuntar resultados (imágenes o gráficos) como anexo

Section 2 iPS Cell Line characterization results. Attach results (images and graphics) as an annex

<p>Test de pluripotencia <i>Pluripotency test</i></p> <p>Anexo 1 <i>Annex 1</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="416 409 555 472"></th> <th data-bbox="555 409 847 472">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="847 409 1034 472">Nº pase <i>Passage n.</i></th> <th data-bbox="1034 409 1198 472">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1198 409 1407 472">Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="416 533 555 566">Oct 4</td> <td data-bbox="555 533 847 566">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="847 533 1034 566">6</td> <td data-bbox="1034 533 1198 566">+</td> <td data-bbox="1198 533 1407 566"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="416 595 555 629">Nanog</td> <td data-bbox="555 595 847 629">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="847 595 1034 629">6</td> <td data-bbox="1034 595 1198 629">+</td> <td data-bbox="1198 595 1407 629"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="416 658 555 692">Sox 2</td> <td data-bbox="555 658 847 692">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="847 658 1034 692">6</td> <td data-bbox="1034 658 1198 692">+</td> <td data-bbox="1198 658 1407 692"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="416 721 555 754">SSEA3</td> <td data-bbox="555 721 847 754">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="847 721 1034 754">6</td> <td data-bbox="1034 721 1198 754">+</td> <td data-bbox="1198 721 1407 754"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="416 784 555 817">SSEA4</td> <td data-bbox="555 784 847 817">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="847 784 1034 817">6</td> <td data-bbox="1034 784 1198 817">+</td> <td data-bbox="1198 784 1407 817"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="416 846 555 880">TRA-1-60</td> <td data-bbox="555 846 847 880">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="847 846 1034 880">6</td> <td data-bbox="1034 846 1198 880">+</td> <td data-bbox="1198 846 1407 880"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="416 909 555 943">TRA-1-81</td> <td data-bbox="555 909 847 943">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="847 909 1034 943">6</td> <td data-bbox="1034 909 1198 943">+</td> <td data-bbox="1198 909 1407 943"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="416 972 555 1005">Fosfatasa. Alk</td> <td data-bbox="555 972 847 1005">actividad</td> <td data-bbox="847 972 1034 1005">6</td> <td data-bbox="1034 972 1198 1005">+</td> <td data-bbox="1198 972 1407 1005"></td> </tr> </tbody> </table>		Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Oct 4	inmunocitoq.	6	+		Nanog	inmunocitoq.	6	+		Sox 2	inmunocitoq.	6	+		SSEA3	inmunocitoq.	6	+		SSEA4	inmunocitoq.	6	+		TRA-1-60	inmunocitoq.	6	+		TRA-1-81	inmunocitoq.	6	+		Fosfatasa. Alk	actividad	6	+	
	Método <i>Method</i>	Nº pase <i>Passage n.</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																										
Oct 4	inmunocitoq.	6	+																																											
Nanog	inmunocitoq.	6	+																																											
Sox 2	inmunocitoq.	6	+																																											
SSEA3	inmunocitoq.	6	+																																											
SSEA4	inmunocitoq.	6	+																																											
TRA-1-60	inmunocitoq.	6	+																																											
TRA-1-81	inmunocitoq.	6	+																																											
Fosfatasa. Alk	actividad	6	+																																											
<p>Test de diferenciación in vitro <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="416 1077 555 1178">Comentarios</th> <th data-bbox="555 1077 719 1178">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="719 1077 847 1178">Marcador <i>Marker</i></th> <th data-bbox="847 1077 1034 1178">Nº pase <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1034 1077 1198 1178">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1198 1077 1407 1178">Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="416 1238 555 1301">Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="555 1238 719 1301">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="719 1238 847 1301">Tuj1</td> <td data-bbox="847 1238 1034 1301">7</td> <td data-bbox="1034 1238 1198 1301">+</td> <td data-bbox="1198 1238 1407 1301"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="416 1330 555 1393">Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="555 1330 719 1393">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="719 1330 847 1393">ASMA, ASA</td> <td data-bbox="847 1330 1034 1393">7</td> <td data-bbox="1034 1330 1198 1393">+/-</td> <td data-bbox="1198 1330 1407 1393"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="416 1422 555 1485">Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="555 1422 719 1485">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="719 1422 847 1485">AFP, FOXA2</td> <td data-bbox="847 1422 1034 1485">7</td> <td data-bbox="1034 1422 1198 1485">+/-</td> <td data-bbox="1198 1422 1407 1485"></td> </tr> </tbody> </table>	Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq.	Tuj1	7	+		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq.	ASMA, ASA	7	+/-		Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunocitoq.	AFP, FOXA2	7	+/-																						
Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																																									
Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq.	Tuj1	7	+																																										
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq.	ASMA, ASA	7	+/-																																										
Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunocitoq.	AFP, FOXA2	7	+/-																																										
	<p>Mesodermo: cultivo de cuerpos embrioides (EBs) en medio de cultivo suplementado con ácido ascórbico. Endodermo: cultivo de cuerpos embrioides. Ectodermo: cultivo de cuerpos embrioides en medio N2/B27 (ver Anexo 2).</p> <p><i>Mesoderm: Embryoid bodies (EBs) cultured in culture medium supplemented with ascorbic acid. Endoderm: EBs culture. Ectoderm: EBs culture in N2/B27 (see Annex 2).</i></p>																																													

Test de diferenciación in vivo <i>In vivo differentiation test</i>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="422 152 582 280">Comentarios</th> <th data-bbox="590 152 726 280">Método <i>Method</i></th> <th data-bbox="734 152 869 280">Marcador <i>Marker</i></th> <th data-bbox="877 152 1013 280">Nº pase <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1021 152 1157 280">Resultado <i>Results</i></th> <th data-bbox="1165 152 1401 280">Comentarios <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="422 302 582 392">Ectodermo <i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="590 302 726 392">inmunohist.</td> <td data-bbox="734 302 869 392">MAP2, GFAP</td> <td data-bbox="877 302 1013 392">12</td> <td data-bbox="1021 302 1157 392">+/-</td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="422 414 582 504">Mesodermo <i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="590 414 726 504">inmunohist.</td> <td data-bbox="734 414 869 504">ASMA, ASA</td> <td data-bbox="877 414 1013 504">12</td> <td data-bbox="1021 414 1157 504">+/-</td> <td></td> </tr> <tr> <td data-bbox="422 526 582 616">Endodermo <i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="590 526 726 616">inmunohist.</td> <td data-bbox="734 526 869 616">AFP, FOXA2</td> <td data-bbox="877 526 1013 616">12</td> <td data-bbox="1021 526 1157 616">+/-</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	MAP2, GFAP	12	+/-		Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	ASMA, ASA	12	+/-		Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP, FOXA2	12	+/-	
Comentarios	Método <i>Method</i>	Marcador <i>Marker</i>	Nº pase <i>Passage n</i>	Resultado <i>Results</i>	Comentarios <i>Comments</i>																				
Ectodermo <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	MAP2, GFAP	12	+/-																					
Mesodermo <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	ASMA, ASA	12	+/-																					
Endodermo <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP, FOXA2	12	+/-																					
Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	<p>Inyección intratesticular en ratones SCID de 4·10 mill de células indiferenciadas y tras 8 semanas, análisis de los teratomas producidos mediante técnicas de inmunohistoquímica para ectodermo, mesodermo y endodermo (Anexo 3).</p> <p><i>4·10 mill of undifferentiated cells were injected into the testis of SCID mice. After 8 weeks, teratomas were analyzed by immunohistochemistry for ectoderm, endoderm and mesoderm (Annex 3).</i></p>																								
Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase) <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	<p>46, XX; p7</p>																								
Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de la línea celular <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the cell line</i>	<p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial sample are identical to the markers of the iPS line (Annex 5)</i></p>																								
Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	<p><i>No procede, debido a que se trata un método no-integrativo</i></p> <p><i>Not applicable, due to non-integrating reprogramming methodology.</i></p>																								
Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular) <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	<p>El análisis mediante q-RT-PCR mostró la ausencia de mRNA derivado de virus Sendai en la línea de iPSC y la presencia de mRNA derivado de virus Sendai en células control tras 1 semana de transducción (Anexo 6).</p> <p><i>The q-RT-PCR showed absence of Sendai virus derived mRNAs in iPSCs and presence of Sendai virus derived mRNAs in virus transduced control cells 1 week after transduction (Annex 6).</i></p>																								

Confirmación del diagnóstico genotípico en las iPSC generadas a partir de muestras con mutación genética <i>Confirmation of genotypic diagnosis of the cell line generated from samples with genetic mutation</i>	No procede <i>Not applicable</i>
Test de micoplasma <i>Mycoplasma Test</i>	Negativo por PCR (Anexo 7) <i>Negative by PCR (Annex 7)</i>

SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

Section 3 Applicant Details

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Bigas	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques:</i>	Teléfono (phone): 933160440 Fax: E-mail: anna.bigas1@gmail.com

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Núria Nogués	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Pg. Taulat, 116 08005 Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Banc de Sang i Teixits	Teléfono (phone): 9305573500 Fax: E-mail: nnogues@bst.cat

Investigador Principal: <i>Principal Investigator:</i> Anna Veiga Lluch	Dirección Postal: <i>Postal address:</i> Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l'Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona
Centro de Trabajo: <i>Institution:</i> Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB)	Teléfono (phone): 93 3160360 Fax: E-mail: blc@cmrb.eu

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):

Las líneas de iPSCs humanas obtenidas en el marco del Proyecto PERIS “Regeneración hematopoyética a partir de células madre pluripotentes” (Ref. 04/2017) son portadoras de unos polimorfismos genéticos que determinan la expresión de un fenotipo eritrocitario de especial interés cuando se diferencian a linaje eritroide. La particularidad de su fenotipo eritrocitario radica, bien en la combinación de grupos sanguíneos expresados en forma homocigota, o bien en la ausencia de expresión de un grupo sanguíneo de alta prevalencia en la población. En ambos casos, tal como se expone en la memoria del proyecto, el interés en la generación de estas líneas celulares se basa en su uso potencial para la producción de hematíes “in vitro” que puedan ser utilizados como célula-reactivo en la identificación de anticuerpos eritrocitarios. Esta potencialidad está siendo evaluada en el marco del proyecto mencionado y datos preliminares apuntan a que estas líneas, y otras generadas con otros perfiles eritrocitarios pero con la misma finalidad, pueden ser parte de una futura colaboración con la industria en forma de partenariado para el desarrollo de un nuevo sistema de diagnóstico de la aloinmunización eritrocitaria. En este sentido, y para proteger la posible transferencia tecnológica a colaboradores industriales, tanto nacionales como internacionales, querríamos solicitar la posibilidad de que, aun estando registradas en el BNLC, la solicitud de estas líneas de iPSCs por parte de terceros, fuera notificada a la institución que las ha generado, en este caso, el Banc de Sang i Teixits de Catalunya, y su cesión fuera también validada por esta misma institución, una vez el BNLC aprobara, según sus propios criterios, la solicitud recibida de organizaciones externas.

Otras observaciones o información relevantes (a rellenar por el BNLC):
Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)

Seguimiento de la línea (a rellenar por el BNLC):
Follow up of the line (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>  Fecha/ Date: 13/5/2015	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  6/5/201 Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Joaquim Bellmunt Molins	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Doctor Aiguader 88 08003 Barcelona	Teléfono /Telephone: 933160780 Fax: 933160572 E-mail: jbellmunt@imim.es

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>  Fecha/ Date:	Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i>  28/5/2019 Fecha /Date
Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: Banc de Sang i Teixits <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Enric Argelagués Vidal. Director General	
Dirección Postal: <i>Postal Address:</i> Edifici Dr. Frederic Duran i Jordà Passeig Taulat, 106-116 08005 Barcelona	Teléfono /Telephone: 93 5573522 Fax: E-mail: eargelagues@bst.cat

<p>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></p>  <p>Fecha/ Date: 12/06/19</p>	<p>Firma del Investigador Principal <i>Signature of the Principal Investigator</i></p>  <p>13.VI.19. Fecha /Date</p>
<p>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro: <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> Angel Raya. Director</p>	
<p>Dirección Postal: <i>Postal Address:</i></p> <p>Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l' Hospitalet 199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona</p>	<p>Teléfono /Telephone: 93 3160320</p> <p>Fax:</p> <p>E-mail: gerencia@cmrb.eu</p>

ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA LÍNEA CELULAR **BST PBiPS1-SV4F-1 EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES**

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Diferenciación *in vivo*

Anexo 4: Cariotipo

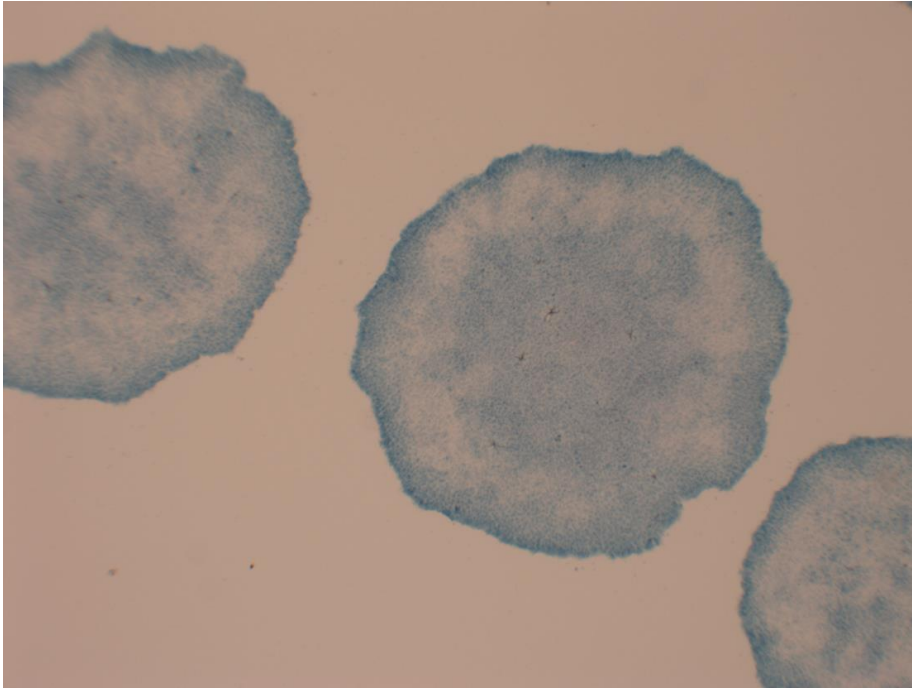
Anexo 5: Resultados microsatélites

Anexo 6: Ausencia de transgenes de reprogramación

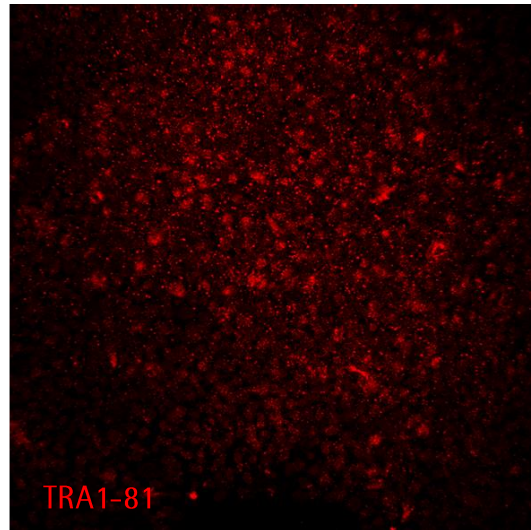
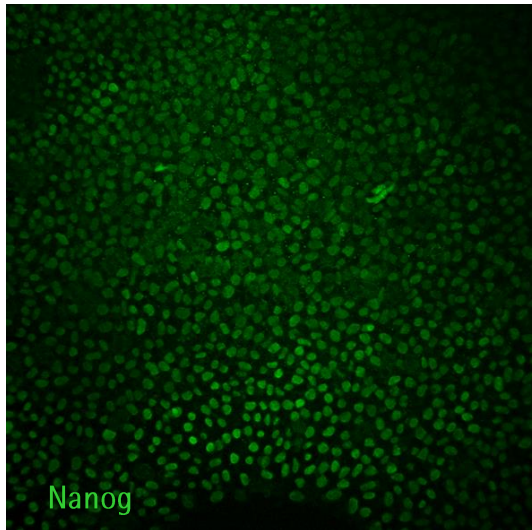
Anexo 7: Resultado test de micoplasma

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

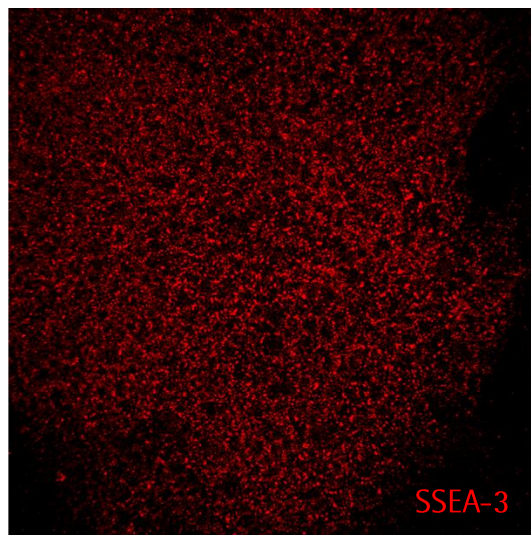
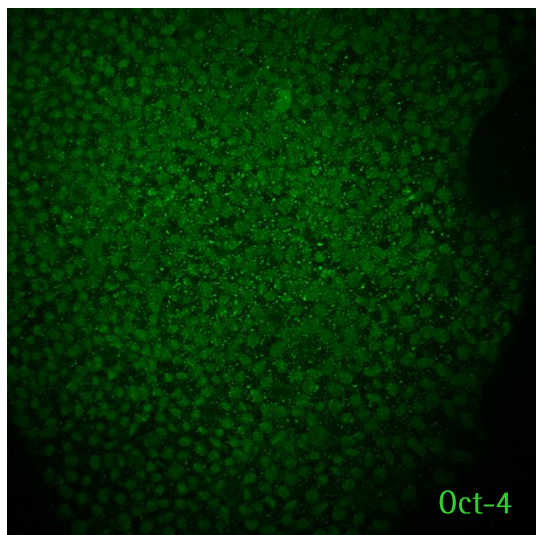


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



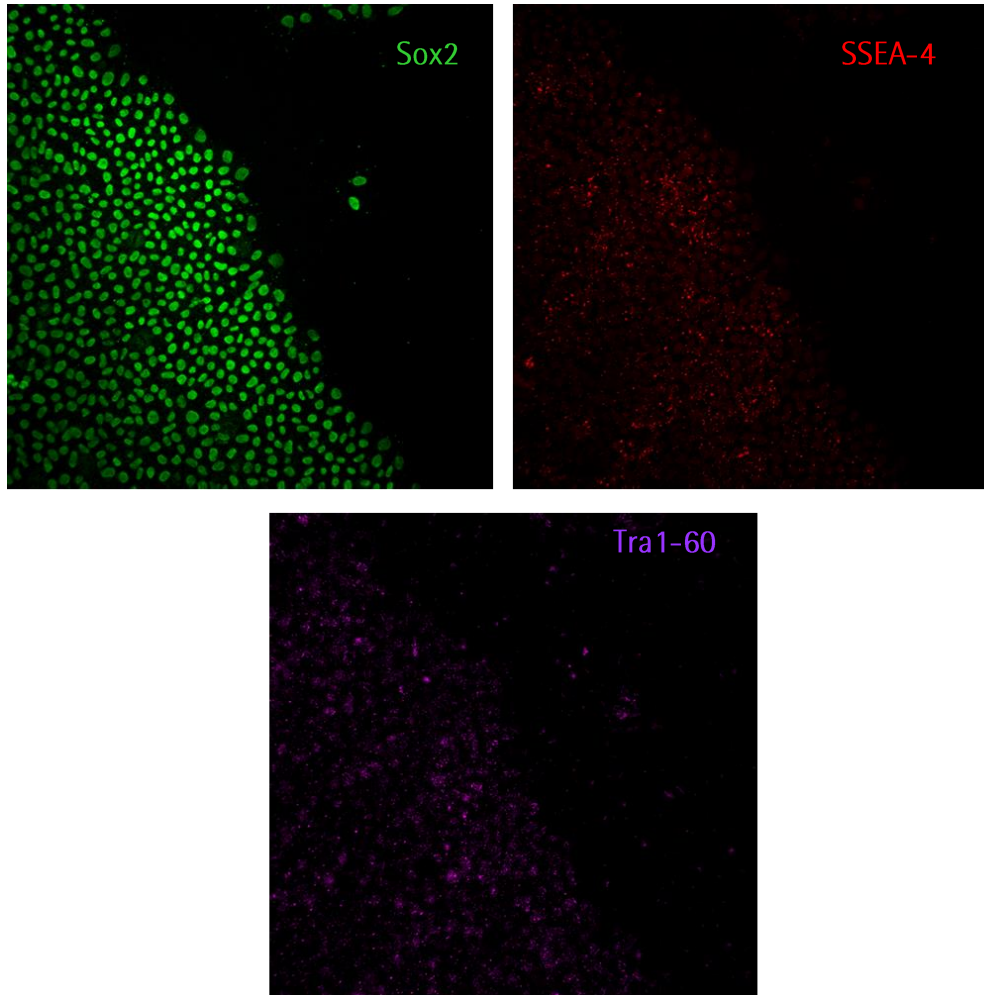
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3

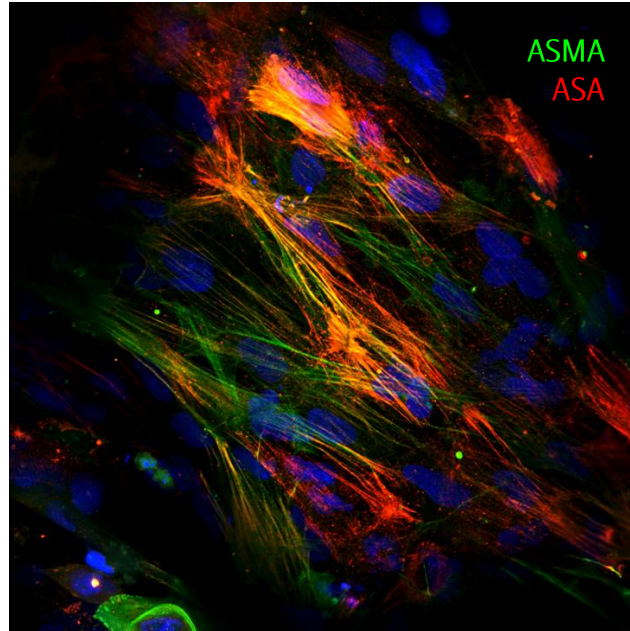


Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

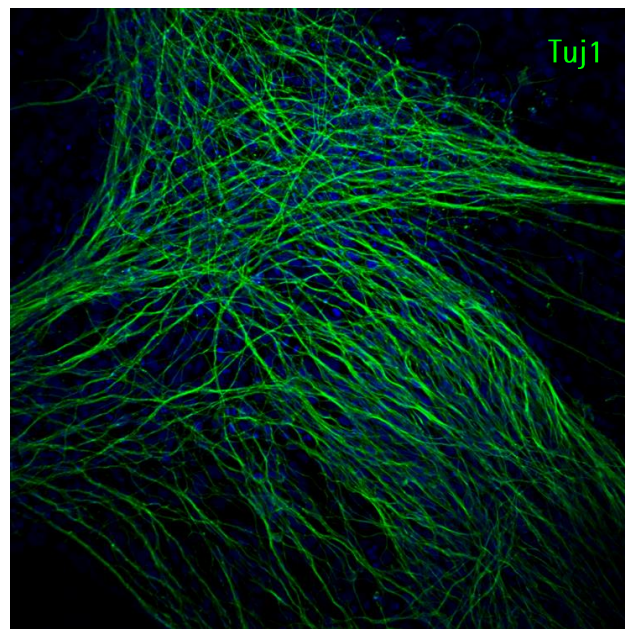
Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

Anexo 2

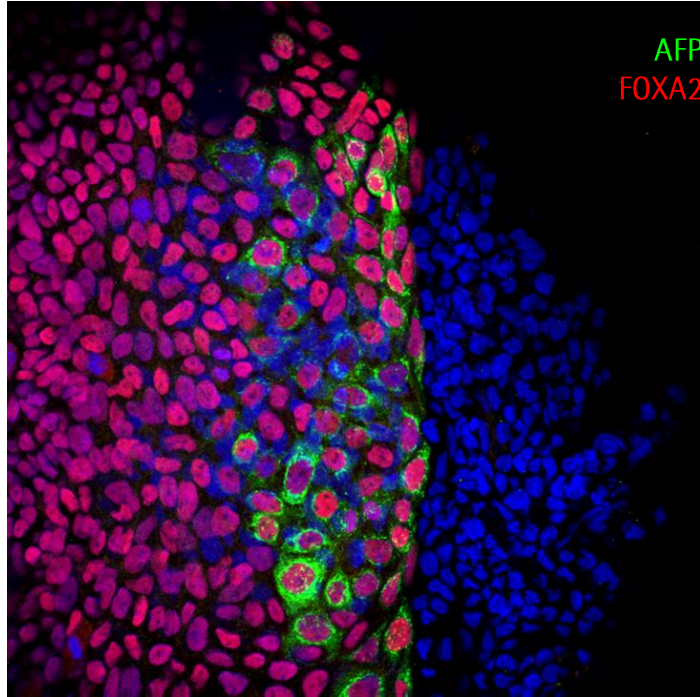
Diferenciación *in vitro*



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y ASA**



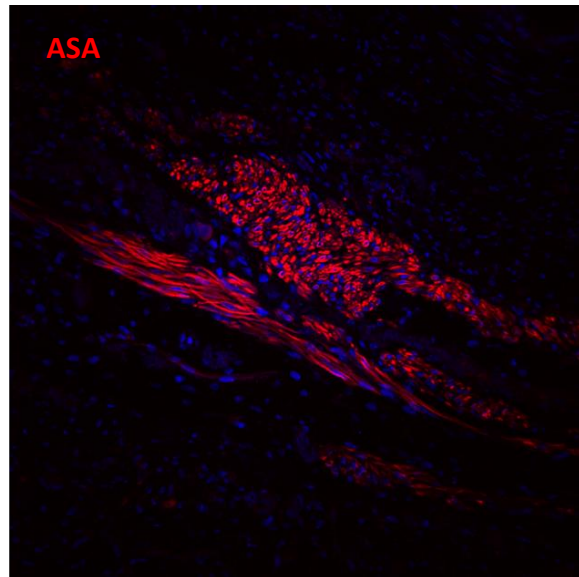
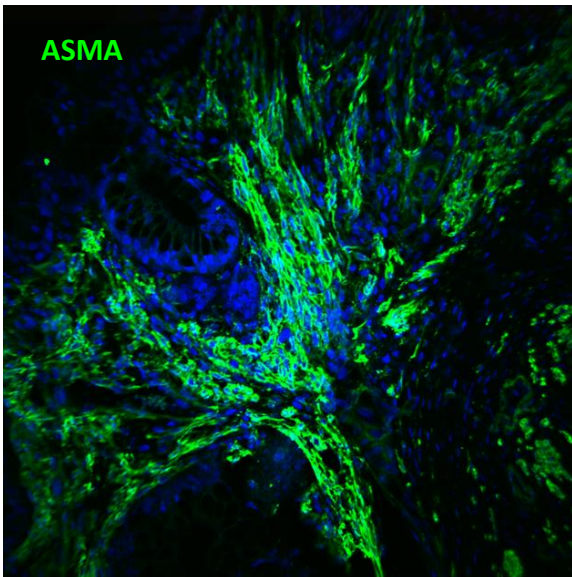
Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1**



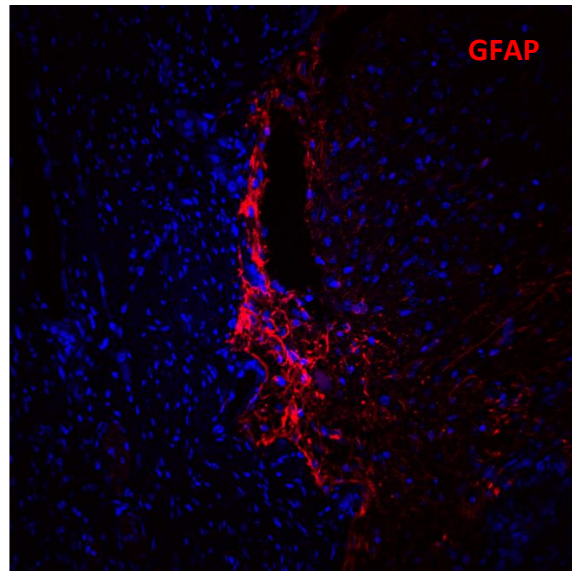
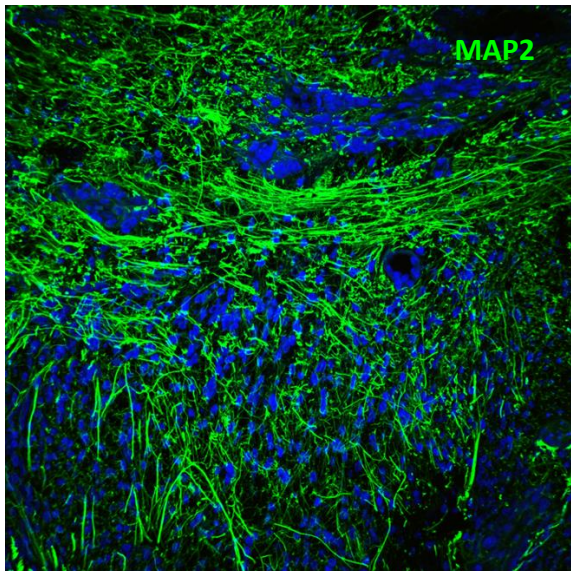
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP y FOXA2**

Anexo 3

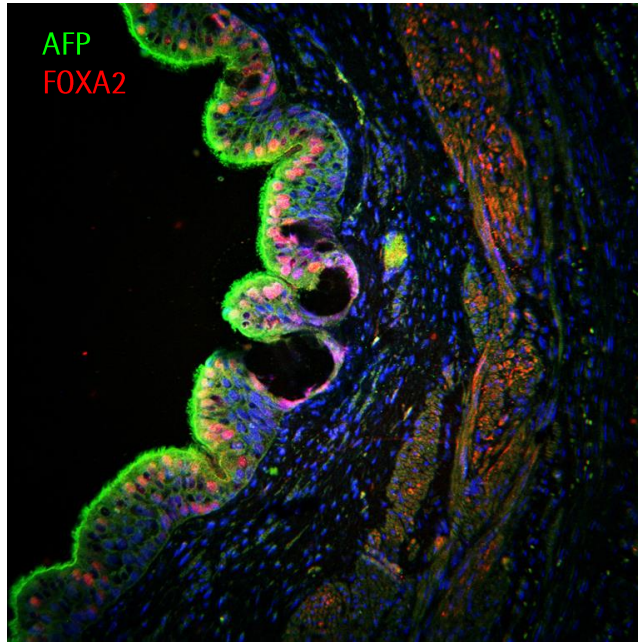
Diferenciación *in vivo*



Diferenciación *in vivo* a mesodermo: Células positivas para **ASMA** y **ASA**



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **Map2** y **GFAP**.

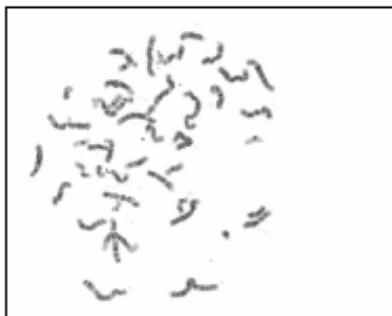
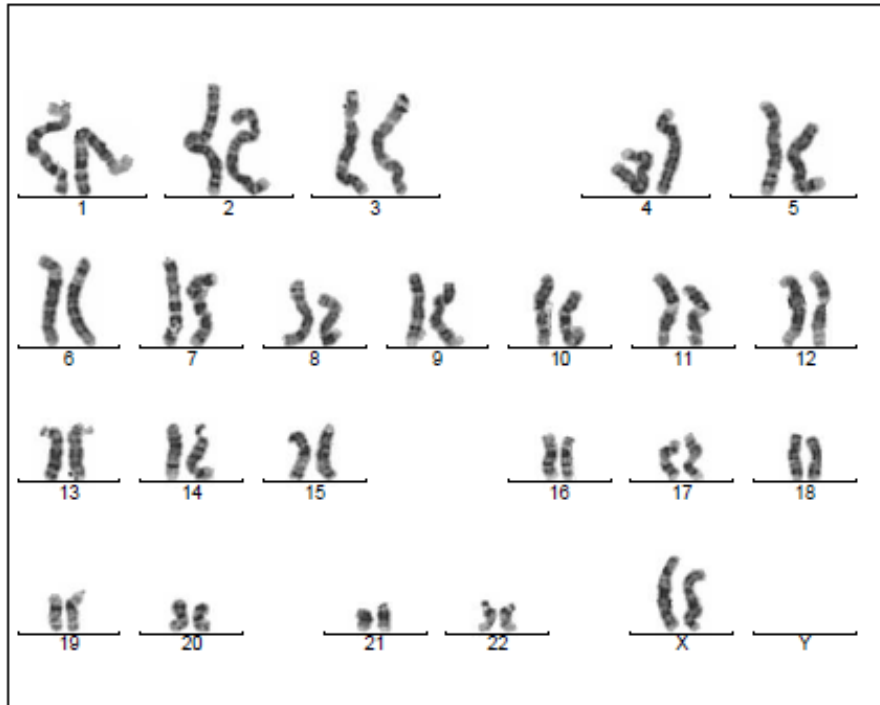


Diferenciación in vivo a endodermo: Células positivas para **AFP y FOXA2**

Anexo 4

Cariotipo

Cytogenetic analysis



Case name: A194216

Patient name: BTS1 PBiPS-1 Sv4F-1 p7

Specimen type: stem cells

Result: 46,XX

Anexo 5

Resultado microsatélites



Los resultados obtenidos son estudiados mediante el programa informático GeneMapper[®] 3.2. De acuerdo con la información suministrada por Promega[®] sobre su kit de amplificación GenePrint[®] 10 System, estos son los datos correspondientes de los alelos existentes para cada uno de los diferentes loci STR (figura1):



Table 3. The GenePrint[®] 10 System Allele Ladder Information.

STR Locus	Label	Size Range of Allele Ladder Components ^a (bases)	Repeat Numbers of Allele Ladder Components
TH01	FL	156–166	4–9, 9.3, 10–11, 13.3
D21S11	FL	203–259	24, 24.2, 25, 25.2, 26–28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36–38
D5S818	JOE	119–153	7–16
D13S317	JOE	176–208	7–15
D7S820	JOE	215–247	8–14 ^b
D16S539	JOE	264–304	5, 8–15
CSF1PO	JOE	321–357	6–15
Amelogenin	TMR	106, 112	X, Y
vWA	TMR	125–171	10–22
TPOX	TMR	262–290	6–13

^aThe length of each allele in the allele ladder has been confirmed by sequence analysis.

^bWhen using an internal lane standard, such as the Internal Lane Standard 600, the calculated sizes of allele ladder components may differ from those listed. This occurs because different sequences in allele ladder and ILS components may cause differences in migration. The dye label also affects migration of alleles.

^cThe La cell has a microvariant allele 13.3 at the D13S317 locus. This will appear as an off-ladder allele (see www.promega.com/resources/faq/_0138317_Janus17c).

Figura 1. Información de la casa comercial Promega sobre la relación entre cada uno de los loci STR amplificados y las repeticiones (en rangos de tamaño y número) que pueden estar presentes en dichos productos de PCR.

RESULTADOS:

A continuación se indica el código de Biobanco para la muestra analizada y el código origen del ADN procesado de la línea celular:

Código Biobanco	Código origen de ADN
32180105002	BST PBiPS-1-Sv4F-1 p9 (05.02.18)

En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR.

Código origen del ADN de la línea celular	Loci STR analizados									
	AMEL	CSF1PO	D13S317	D16S539	D21S11	D5S818	D7S820	TH01	TPOX	vWA
BST PBiPS-1-Sv4F-1 p9 (05.02.18)	X	10, 11	11, 12	11, 14	24.2, 30	11	8, 10	6, 9	8	13, 16

Granada, a 26 de Marzo de 2018

Laboratorio de Biología Molecular
 Biobanco del SSPA

RESULTADOS:

A continuación se indica el código de Biobanco para la muestra analizada y el código origen del ADN procesado de la línea celular:

Código Biobanco	Código origen de ADN
32180076002	BST-PERIS 01

En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR.

Código origen del ADN de la línea celular	Loci STR analizados									
	AMEL	CSF1PO	D13S317	D16S539	D21S11	D5S818	D7S820	TH01	TPOX	vWA
BST-PERIS 01	X	10, 11	11, 12	11, 14	24.2, 30	11	8, 10	6, 9	8	15, 16

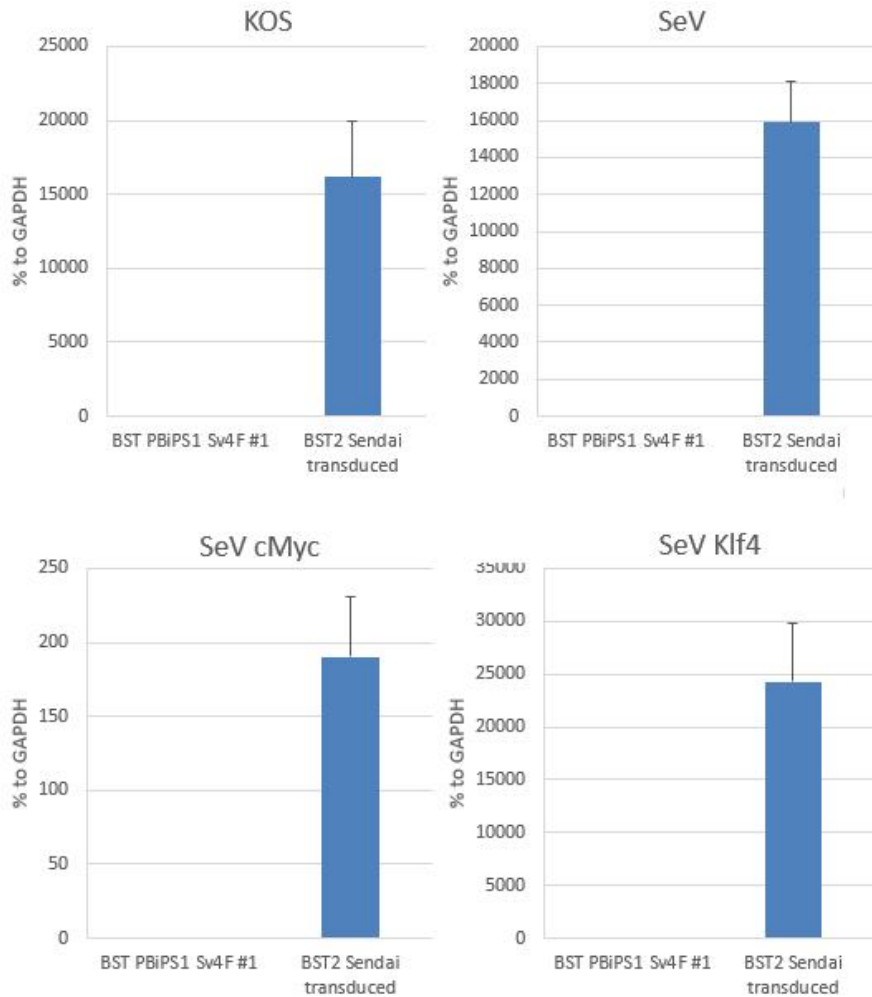
Granada, a 19 de Febrero de 2018

Laboratorio de Biología Molecular
Biobanco del SSPA

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en las células de la cual procede.

Anexo 6

Ausencia de transgenes de reprogramación

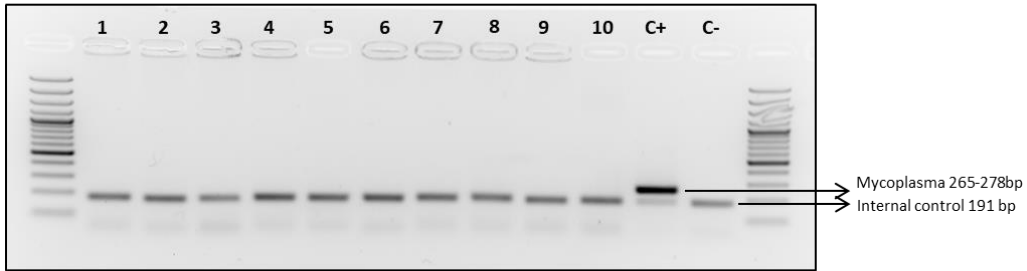


Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por q-RT-PCR de la expresión de mRNAs de los transgenes en las iPSC generadas y en células control tras una semana de transducción. Se muestra expresión relativa a GAPDH.

Anexo 7

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test Jan 31st, 2018



3. BST PBiPS1-Sv4F-1, p7