

**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:** 25.02.2020

## **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**

<b>Nombre de la línea iPS</b> <i>Name of the iPS line:</i>	CT PBiPS2-Sv4F-1
<b>Muestra original donada.</b> <b>Detallar tipo de célula, tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica de la que se obtiene la línea original.</b> <b>Si son células comerciales, detallar nombre, referencia y distribuidor comercial</b> <i>Original sample donated.</i> <i>Detail cell type, tissue of origin and anatomic location of the biological sample from which the original line is obtained.</i> <i>If cells are commercial, detail name, reference and trade distributor.</i>	Células mononucleadas de sangre periférica  <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	Masculino, 14 años Male, 14 years
<b>¿El donante tiene alguna patología?</b> <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> No      SÍ <input checked="" type="checkbox"/> (especificar) Yes (specify)      Cardiotoxicidad Cardiac toxicity
<b>¿La patología es de origen genético?</b> <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input checked="" type="checkbox"/> No      SÍ <input type="checkbox"/> (especificar) Yes (specify)
<b>Muestra biológica recibida</b> <i>Biological sample</i>	Fresco <input checked="" type="checkbox"/> Fresh      Crioconservado <input type="checkbox"/> Cryopreserved

<b>Fecha de la donación de la muestra biológica</b> <i>Date of donation of the biological sample</i> 6.03.2019	<b>Fecha del uso o descongelación (si congelado)</b> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 7.03.2019
<b>Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario).</b> <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). 37ºC- 5%CO2
<b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen</b> <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the original cells.</i>	Los marcadores de microsatélites de las células 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>
<b>¿Hay disponibilidad de viales congelados de las células de origen? ¿En qué pase?</b> <i>Is there availability of frozen vials of original cells? At what passage?</i>	No  No
<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>	Generación de las células de pluripotencia inducida (iPSC) a partir de células mononucleadas de sangre periférica de un paciente que presenta cardiotoxicidad a las antraciclinas, 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 patient showing cardiotoxicity to anthracyclines, 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>
<b>Condiciones de cultivo de la línea de iPSc generada. (si se describen en publicación, indicar referencia)</b> <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). 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)
<b>Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo (forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma;otros)</b> <i>Description of the morphological characteristics of the line in</i>	Colonias grandes poligonales, ligeramente aplanas, 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 diameter. They have several forms and smooth edges. High nucleus/cytoplasm ratio.</i>

<p><i>culture (form and size of the colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</i></p>	
<p><b>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación)</b>  <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><b>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15)</b>  <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>Viales congelados a pasos 5-13  Frozen vials at passages 5-13</p>
<p><b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b>  <i>Has the line been genetically modified?</i></p> <p>Sí Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p><b>Comentarios/ Comments:</b></p>	<p><b>¿Se llevó a cabo un análisis clonal?</b>  <i>Has a clonal analysis been carried out?</i></p> <p>Sí/ Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p><b>Resultado / Result</b></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*

<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>
Anexo 1 <i>Annex 1</i>	<b>Oct 4</b> inmunocitoq.	12	+	
	<b>Nanog</b> inmunocitoq.	12	+	
	<b>Sox 2</b> inmunocitoq.	12	+	
	<b>SSEA3</b> inmunocitoq.	12	+	
	<b>SSEA4</b> inmunocitoq.	12	+	
	<b>TRA-1-60</b> inmunocitoq.	12	+	
	<b>TRA-1-81</b> inmunocitoq.	12	+	
	<b>Fosfatasa. Alk</b> actividad	12	+	
<b>Test de diferenciación in vitro</b> <i>In vitro differentiation test</i>	<b>Comentarios</b> <i>Method</i>	<b>Método</b> <i>Marker</i>	<b>Nº pase</b> <i>Passage n.</i>	<b>Resultado</b> <i>Results</i>
Anexo 2 <i>Annex 2</i>	<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq. Tuj1, GFAP	13	+/+
	<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq. ASMA, ASA	13	+/+
	<b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i>	inmunocitoq. AFP, FOXA2	13	+/+
	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).  <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>			

<b>Test de diferenciación <i>in vivo</i></b> <i>In vivo differentiation test</i>	<b>Comentarios</b> <i>Method</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>Comments</b> <i>Comments</i>
Anexo 3 <i>Annex 3</i>	<b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	NeFi	19	+/-	
	<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	ASMA, ASA	19	+/-	
	<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>	inmunohist.	AFP, FOXA2	19	+/-	
<b>Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i></b> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i>	Formación de teratomas mediante 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).					
	Teratoma formation: 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).					
<b>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase)</b> <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i>	46,XY,inv(12)(p11.2q13.3); p12 (Anexo 4/ Annex 4)					
<b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de la línea celular</b> <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the cell line</i>	Los marcadores de microsatélites de las células 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>					
<b>Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b> <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i>	No procede, debido a que se trata un método no-integrativo <i>Not applicable, due to non-integrating reprogramming methodology</i>					

<b>Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b> <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i>	El análisis mediante 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).  <i>The 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>
<b>Confirmación del diagnóstico genotípico en las iPSC generadas a partir de muestras con mutación genética</b> <i>Confirmation of genotypic diagnosis of the cell line generated from samples with genetic mutation</i>	No procede  <i>Not required</i>
<b>Test de micoplasma</b> <b><i>Mycoplasma Test</i></b>	Negativo por PCR (Anexo 7)  <i>Negative by PCR (Annex 7)</i>

### SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

*Section 3 Applicant Details*

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

<b>Investigador Principal:</b> <i>Principal Investigator:</i> Pilar Sepúlveda Sanchis	<b>Dirección Postal:</b> <i>Postal address:</i> Instituto de Investigación Sanitaria La Fe Torre A, 5º planta, Lab 5.03 Avda. Fernando Abril Martorell 106 46026 Valencia
<b>Centro de Trabajo:</b> <i>Institution:</i> Instituto de Investigación Sanitaria La Fe	<b>Teléfono (phone):</b> +34 669995632  <b>Fax:</b>  <b>E-mail:</b> pilar.sepulveda.sanchis@gmail.com



**SECCIÓN 4**  
*Section 4***INFORMACIÓN ADICIONAL (OPCIONAL)**  
*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 llenar por el BNLC):  
Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)

**Seguimiento de la línea** (a llenar 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.*

<p><b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b>  <i>(Representante legal del Departamento/Centro)  Legal Representative of the Department/Centre)</i></p> <p><b>CAPELLA MUNAR  GABRIEL MARIA -  46114965B</b></p> <p>Firmado digitalmente por CAPELLA  MUNAR GABRIEL MARIA - 46114965B  Nombre de reconocimiento (DN): c=ES,  serialNumber=IDCES-46114965B,  givenName=GABRIEL MARIA,  sn=CAPELLA,MUNAR,ou=CAPELLA  MUNAR GABRIEL MARIA - 46114965B</p> <p>Fecha: 2020.06.25 09:52:44 +02'00'</p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b>  <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p><b>ANA MARIA  VEIGA LLUCH -  DNI 46109740F</b></p> <p>Firmado digitalmente  por ANA MARIA VEIGA  LLUCH - DNI 46109740F  Fecha: 2020.06.22  09:41:11 +02'00'</p> <p><b>Fecha /Date</b></p>
<p><b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b>  <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i>  Gabriel Capellá. Director</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b>  <i>Postal Address:</i></p> <p>Hospital Duran i Reynals. Gran Via de l' Hосpitalet  199. 08908. Hospitalet de Llobregat. Barcelona</p>	<p><b>Teléfono /Telephone:</b> 93 2607291</p> <p><b>Fax:</b></p> <p><b>E-mail:</b> gcapella@idibell.cat</p>

<p><b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b>  <i>(Representante legal del Departamento/Centro)  Legal Representative of the Department/Centre)</i></p> <p><b>Máximo Vento Torres</b></p> <p><b>MAXIMO VENTO TORRES</b></p> <p>Firmado  digitalmente por  MAXIMO VENTO   TORRES  Fecha: 2020.06.19  09:15:50 +02'00'</p> <p>Fecha/ Date:</p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b>  <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p><b>SEPULVEDA  SANCHIS PILAR - 29166924A</b></p> <p>Firmado digitalmente por SEPULVEDA  SANCHIS PILAR - 29166924A  Nombre de reconocimiento (DN):  c=ES,  serialNumber=IDCES-29166924A,  givenName=PILAR, sn=SEPULVEDA  SANCHIS, cn=SEPULVEDA SANCHIS  PILAR - 29166924A  Fecha: 2020.06.18 13:03:29 +02'00'</p> <p><b>Fecha /Date</b></p>
<p><b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b>  <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i>  Máximo Vento Torres</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b>  <i>Postal Address:</i></p> <p>Instituto de Investigación Sanitaria La Fe  Torre A, 7º planta  Avda. Fernando Abril Martorell 106  46026 Valencia</p>	<p><b>Teléfono /Telephone:</b> 961246601</p> <p><b>Fax:</b></p> <p><b>E-mail:</b> máximo_vento@iislafe.es</p>