

**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 Deposit of an 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 for 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>	NW FiPS 10II.3-R4F-1
<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>	Fibroblastos de dermis procedentes de biopsia de piel.  <i>Dermal fibroblasts from skin biopsy.</i>
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	Femenino, 40 años <i>Female, 40 years</i>
<b>¿El donante tiene alguna patología?</b> <i>Has the donor any pathological condition?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> Deletion atípica en la región 7q11.23 del Síndrome de Williams- Beuren No                      Yes <input checked="" type="checkbox"/> Atypical deletion of the 7q11.23 Williams-Beuren Syndrome region
<b>¿La patología es de origen genético?</b> <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	NO <input type="checkbox"/> SÍ <input checked="" type="checkbox"/> Deletion atípica en la región 7q11.23 del Síndrome de Williams- Beuren (817 Kb) No                      Yes <input checked="" type="checkbox"/> Atypical deletion of the 7q11.23 Williams-Beuren Syndrome region (817 Kb)

<b>Muestra biológica recibida</b> <i>Biological sample</i>	<b>Fresco</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>Crioconservado</b> <input 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> 30.10.2016	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> 30.10.2016
<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).  37°C- 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 la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)  <i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than 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>	Si, 19 viales a p2  Yes, 19 vials at p2
<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) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	Generación de las células pluripotenciales inducidas (iPSC) a partir de los fibroblastos de un paciente (p3) que presenta la delección de 817kb en 7q11.23 mediante la estrategia retroviral con expresión ectópica de 4 factores de transcripción (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc). Mediante el uso de un plásmido retroviral (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) y un constructo tricistrónico (pMXsKLF4 MYCGFP)  <i>The induced pluripotent stem cells (iPSC) were generated from fibroblasts (p3) of a patient showing the atypical deletion of 817 kb at 7q11.23, by the retroviral strategy with ectopic expression of 4 transcription factors (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc), using the retroviral plasmid (pMXs OCT4 VP16 SOX2-mOrange) and a tricistronic constructor (pMXsKLF4 MYCGFP).</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, CCD112Sk). 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)



<p><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 culture (form and size of the colonies; form and size of the cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</i></p>	<p>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.</p> <p><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>
<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 by isopropanol container 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 banco/registro. (Máximo: Pase 15)</b>  <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>Viales congelados a pases entre 3-16</p> <p><i>Frozen vials at passages 3-16</i></p>
<p><b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b>  <i>Has the line been genetically modified?</i>  <b>Sí Yes <input type="checkbox"/> No No <input checked="" type="checkbox"/></b></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><b>Sí/ Yes <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> 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*

<p><b>Test de pluripotencia</b> <i>Pluripotency test</i></p> <p>Anexo 1 <i>Annex 1</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="454 389 598 454"></th> <th data-bbox="598 389 893 454"><b>Método</b> <i>Method</i></th> <th data-bbox="893 389 1077 454"><b>Nº pase</b> <i>Passage n.</i></th> <th data-bbox="1077 389 1236 454"><b>Resultado</b> <i>Results</i></th> <th data-bbox="1236 389 1441 454"><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="454 510 598 544"><b>Oct 4</b></td> <td data-bbox="598 510 893 544">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="893 510 1077 544">15</td> <td data-bbox="1077 510 1236 544">+</td> <td data-bbox="1236 510 1441 544"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="454 577 598 611"><b>Nanog</b></td> <td data-bbox="598 577 893 611">inmunocitoq. .</td> <td data-bbox="893 577 1077 611">15</td> <td data-bbox="1077 577 1236 611">+</td> <td data-bbox="1236 577 1441 611"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="454 645 598 678"><b>Sox 2</b></td> <td data-bbox="598 645 893 678">inmunocitoq. .</td> <td data-bbox="893 645 1077 678">15</td> <td data-bbox="1077 645 1236 678">+</td> <td data-bbox="1236 645 1441 678"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="454 712 598 745"><b>SSEA3</b></td> <td data-bbox="598 712 893 745">inmunocitoq. .</td> <td data-bbox="893 712 1077 745">15</td> <td data-bbox="1077 712 1236 745">+</td> <td data-bbox="1236 712 1441 745"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="454 779 598 813"><b>SSEA4</b></td> <td data-bbox="598 779 893 813">inmunocitoq. .</td> <td data-bbox="893 779 1077 813">15</td> <td data-bbox="1077 779 1236 813">+</td> <td data-bbox="1236 779 1441 813"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="454 846 598 880"><b>TRA-1-60</b></td> <td data-bbox="598 846 893 880">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="893 846 1077 880">15</td> <td data-bbox="1077 846 1236 880">+</td> <td data-bbox="1236 846 1441 880"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="454 913 598 947"><b>TRA-1-81</b></td> <td data-bbox="598 913 893 947">inmunocitoq. .</td> <td data-bbox="893 913 1077 947">15</td> <td data-bbox="1077 913 1236 947">+</td> <td data-bbox="1236 913 1441 947"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="454 981 598 1014"><b>Fosfatasa. Alk</b></td> <td data-bbox="598 981 893 1014">actividad.</td> <td data-bbox="893 981 1077 1014">5</td> <td data-bbox="1077 981 1236 1014">+</td> <td data-bbox="1236 981 1441 1014"></td> </tr> </tbody> </table>		<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>	<b>Oct 4</b>	inmunocitoq.	15	+		<b>Nanog</b>	inmunocitoq. .	15	+		<b>Sox 2</b>	inmunocitoq. .	15	+		<b>SSEA3</b>	inmunocitoq. .	15	+		<b>SSEA4</b>	inmunocitoq. .	15	+		<b>TRA-1-60</b>	inmunocitoq.	15	+		<b>TRA-1-81</b>	inmunocitoq. .	15	+		<b>Fosfatasa. Alk</b>	actividad.	5	+	
	<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>																																										
<b>Oct 4</b>	inmunocitoq.	15	+																																											
<b>Nanog</b>	inmunocitoq. .	15	+																																											
<b>Sox 2</b>	inmunocitoq. .	15	+																																											
<b>SSEA3</b>	inmunocitoq. .	15	+																																											
<b>SSEA4</b>	inmunocitoq. .	15	+																																											
<b>TRA-1-60</b>	inmunocitoq.	15	+																																											
<b>TRA-1-81</b>	inmunocitoq. .	15	+																																											
<b>Fosfatasa. Alk</b>	actividad.	5	+																																											
<p><b>Test de diferenciación in vitro</b> <i>In vitro differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="454 1059 598 1160"><b>Comentarios</b></th> <th data-bbox="598 1059 774 1160"><b>Método</b> <i>Method</i></th> <th data-bbox="774 1059 893 1160"><b>Marcador</b> <i>Marker</i></th> <th data-bbox="893 1059 1077 1160"><b>Nº pase</b> <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1077 1059 1236 1160"><b>Resultado</b> <i>Results</i></th> <th data-bbox="1236 1059 1441 1160"><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="454 1216 598 1283"><b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="598 1216 774 1283">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="774 1216 893 1283">Tuj1</td> <td data-bbox="893 1216 1077 1283">17</td> <td data-bbox="1077 1216 1236 1283">+</td> <td data-bbox="1236 1216 1441 1283"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="454 1317 598 1384"><b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="598 1317 774 1384">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="774 1317 893 1384">GATA4/AAS</td> <td data-bbox="893 1317 1077 1384">17</td> <td data-bbox="1077 1317 1236 1384">+</td> <td data-bbox="1236 1317 1441 1384"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="454 1417 598 1485"><b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="598 1417 774 1485">inmunocitoq.</td> <td data-bbox="774 1417 893 1485">FOXA2</td> <td data-bbox="893 1417 1077 1485">17</td> <td data-bbox="1077 1417 1236 1485">+</td> <td data-bbox="1236 1417 1441 1485"></td> </tr> </tbody> </table>	<b>Comentarios</b>	<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>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq.	Tuj1	17	+		<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq.	GATA4/AAS	17	+		<b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i>	inmunocitoq.	FOXA2	17	+																						
<b>Comentarios</b>	<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>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunocitoq.	Tuj1	17	+																																										
<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunocitoq.	GATA4/AAS	17	+																																										
<b>Endoderm</b> <i>Endoderm</i>	inmunocitoq.	FOXA2	17	+																																										
<p><b>Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i></b> <i>(espontánea/inducida)</i></p> <p><i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i></p>	<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/ (see Annex 2).</i></p>																																													

<p><b>Test de diferenciación in vivo</b> <i>In vivo differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="456 170 608 248"><b>Comentarios</b></th> <th data-bbox="608 170 759 248"><b>Método</b> <i>Method</i></th> <th data-bbox="759 170 911 248"><b>Marcador</b> <i>Marker</i></th> <th data-bbox="911 170 1062 248"><b>Nº pase</b> <i>Passage n</i></th> <th data-bbox="1062 170 1246 248"><b>Resultado</b> <i>Results</i></th> <th data-bbox="1246 170 1426 248"><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="456 248 608 405"><b>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="608 248 759 405">inmunohist.</td> <td data-bbox="759 248 911 405">Tuj1-GFAP</td> <td data-bbox="911 248 1062 405">16</td> <td data-bbox="1062 248 1246 405">+/-</td> <td data-bbox="1246 248 1426 405"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="456 405 608 517"><b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="608 405 759 517">inmunohist.</td> <td data-bbox="759 405 911 517">AFP-FOXA2</td> <td data-bbox="911 405 1062 517">16</td> <td data-bbox="1062 405 1246 517">+/-</td> <td data-bbox="1246 405 1426 517"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="456 517 608 600"><b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="608 517 759 600">inmunohist.</td> <td data-bbox="759 517 911 600">ASMA-ASA</td> <td data-bbox="911 517 1062 600">16</td> <td data-bbox="1062 517 1246 600">+/-</td> <td data-bbox="1246 517 1426 600"></td> </tr> </tbody> </table>	<b>Comentarios</b>	<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>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	Tuj1-GFAP	16	+/-		<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	AFP-FOXA2	16	+/-		<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>	inmunohist.	ASMA-ASA	16	+/-	
<b>Comentarios</b>	<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>Ectodermo</b> <i>Ectoderm</i>	inmunohist.	Tuj1-GFAP	16	+/-																					
<b>Mesodermo</b> <i>Mesoderm</i>	inmunohist.	AFP-FOXA2	16	+/-																					
<b>Endodermo</b> <i>Endoderm</i>	inmunohist.	ASMA-ASA	16	+/-																					
	<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>																								
<p><b>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase)</b> <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i></p>	<p>46,XX; p8; p14</p>																								
<p><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></p>	<p>Los marcadores de microsatélites de la muestra inicial de fibroblastos coinciden con los de la línea de iPS generada (Anexo 5)</p> <p><i>Microsatellite markers of the initial fibroblasts sample are identical than the markers of the iPS line (Annex 5)</i></p>																								
<p><b>Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b> <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>La PCR evidenció la integración de los 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc. (Anexo 6)</p> <p><i>Integration of the 4 genes; Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc was shown by PCR (Annex 6)</i></p>																								



<p><b>Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b>  <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>Se evidenció el silenciamiento de los 4 genes de reprogramación: Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc mediante qRT-PCR (Anexo 6)</p> <p><i>Silencing of reprogramming genes Oct-4, Sox-2, Klf-4, c-Myc has been shown by qRT-PCR (Annex 6)</i></p>
<p><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></p>	<p>Anexo 7: Se presenta la amplificación por PCR del punto de rotura en muestras de DNA de un individuo control, de fibroblastos del paciente con la deleción de 817kb en 7q11.23 y de la línea del iPSC procedente de este individuo.</p> <p><i>Annex 7: PCR amplification of deletion junction fragment (breakpoint) and control fragment (control). DNA samples from: control individual with no alterations at 7q11.23, Fibroblast from the individual carrying an atypical deletion of 817 kb at 7q11.23 and iPSCs derived from fibroblast of this individual.</i></p>
<p><b>Test de micoplasma Mycoplasma Test</b></p>	<p>Negativo por PCR (Anexo 8)</p> <p><i>Negative by PCR (Annex 8)</i></p>

### SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

*Section 3 Applicant Details*

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

<p><b>Investigador Principal:</b>  <b>Principal Investigator:</b>  Roser Corominas</p>	<p><b>Dirección Postal:</b>  <b>Postal address:</b>  Carrer Dr. Aiguader 88. Unitat de Genètica. 7ª planta.</p>
<p><b>Centro de Trabajo:</b>  <b>Institution:</b>  Unitat de Genètica, Universitat Pompeu Fabra</p>	<p><b>Teléfono (phone): 93 3160821</b></p> <p><b>Fax:</b></p> <p><b>E-mail: <a href="mailto:roser.corominas@upf.edu">roser.corominas@upf.edu</a> / <a href="mailto:rosercorominas@ub.edu">rosercorominas@ub.edu</a></b></p>

**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)

**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.*

<p><b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b> (Representante legal del Departamento/Centro) (Legal Representative of the Department/Centre)</p> <p>CAPELLA MUNAR GABRIEL MARIA</p> <p><b>Fecha/Date:</b> - 46114965B</p> <p><small>Firmado digitalmente por CAPELLA MUNAR GABRIEL MARIA - 46114965B Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-46114965B, givenName=GABRIEL MARIA, sn=CAPELLA MUNAR, cn=CAPELLA MUNAR GABRIEL MARIA - 46114965B Fecha: 2020.06.17 12:25:22 +02'00'</small></p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b> <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p>ANA MARIA VEIGA LLUCH - DNI 46109740F</p> <p><small>Firmado digitalmente por ANA MARIA VEIGA LLUCH - DNI 46109740F Fecha: 2020.06.17 11:18:08 +02'00'</small></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></p> <p>Gabriel Capellá. Director</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i></p> <p>Gran Via de l'Hospitalet 199. 08908 L'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> (Representante legal del Departamento/Centro) (Legal Representative of the Department/Centre)</p> <p>CPISR-1 C ENRIC VALLDUVÍ BOTET</p> <p><small>Firmado digitalmente por CPISR-1 C ENRIC VALLDUVÍ BOTET Fecha: 2020.06.15 10:31:03 +02'00'</small></p> <p><b>Fecha/ Date:</b></p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b> <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p>Firmado por COROMINAS CASTIÑEIRA, ROSER (FIRMA) el día</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></p> <p>D. Enric Vallduví Botet Vicerrector que ejerce la dirección de proyectos en el ámbito de la investigación en la Universitat Pompeu Fabra</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i></p> <p>Plaça de la Mercè, 10-12 08002 Barcelona</p>	<p><b>Teléfono /Telephone:</b> 93 542 20 00</p> <p><b>Fax:</b></p> <p><b>E-mail:</b> <a href="mailto:spc.recerca@upf.edu">spc.recerca@upf.edu</a> / <a href="mailto:vr.recerca@upf.edu">vr.recerca@upf.edu</a></p>





ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR **NW FiPS 10II.3-R4F-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: Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación

Anexo 7: Genotipado

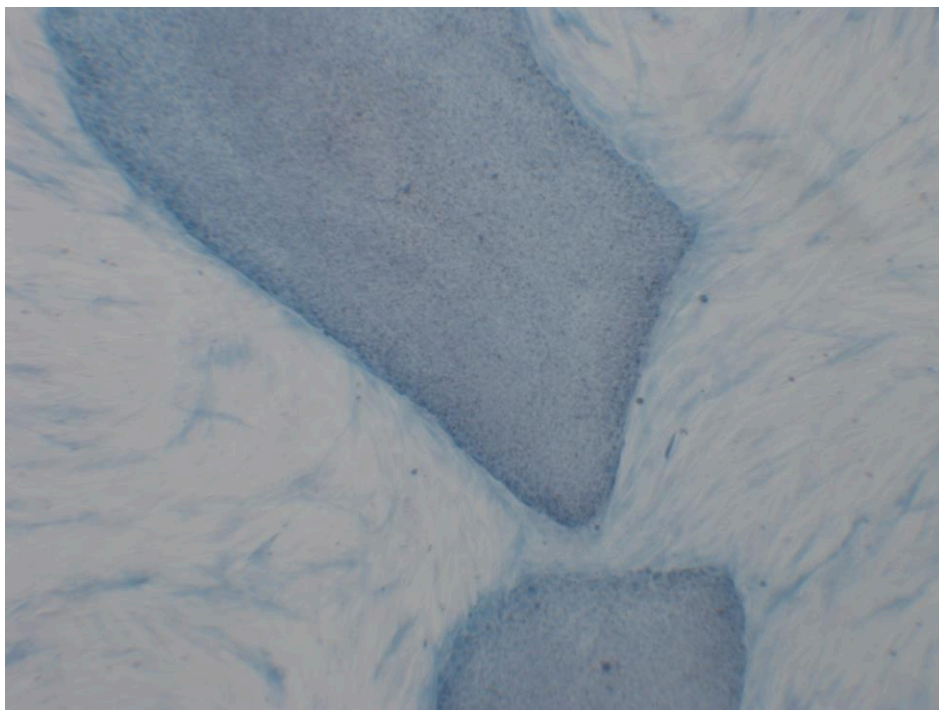
Anexo 8: Resultado Test de micoplasma



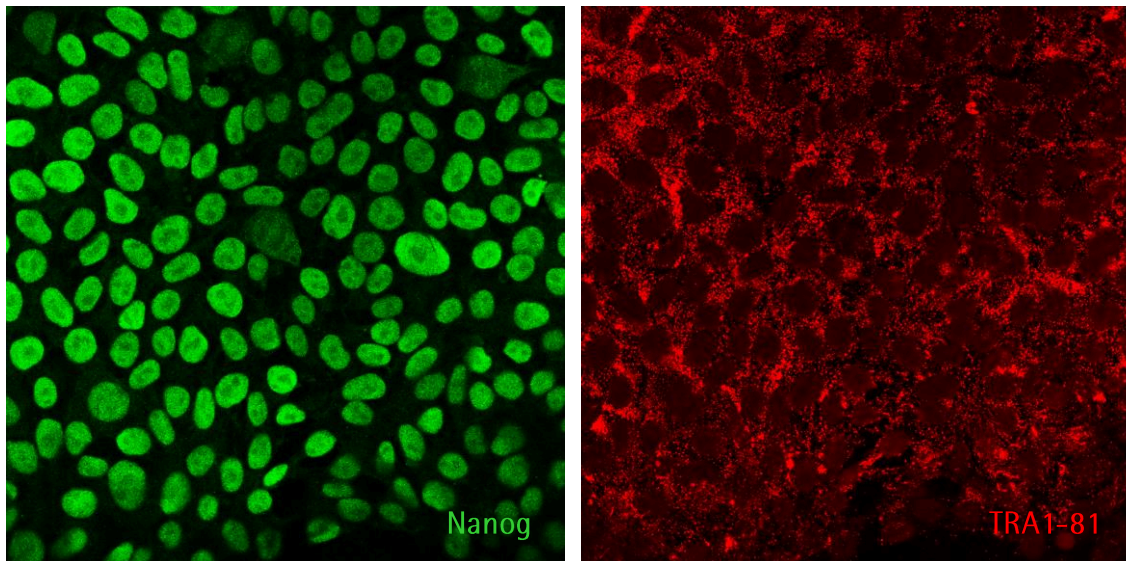
## **Anexo 1**

### **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**



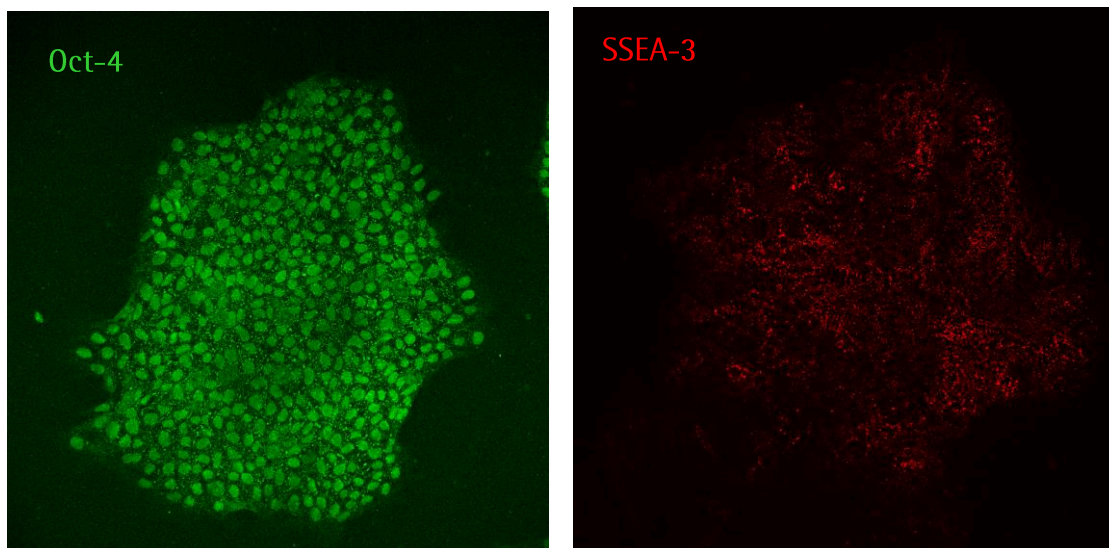


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



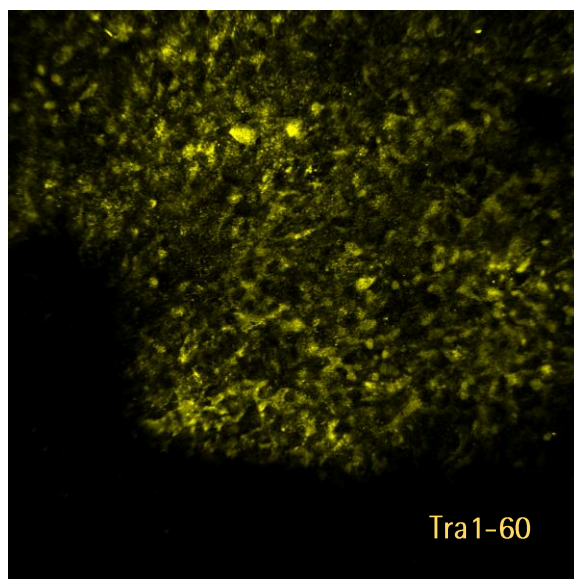
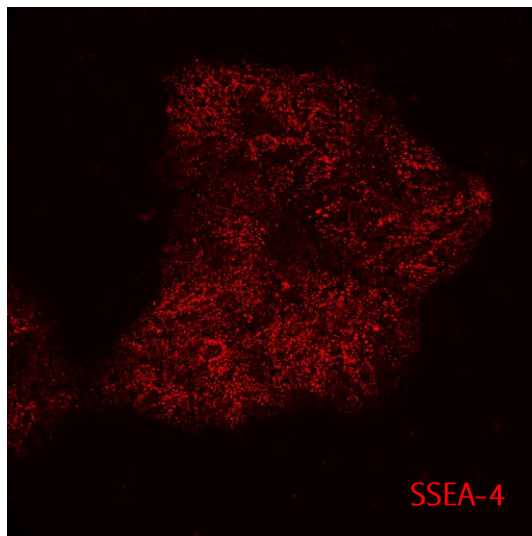
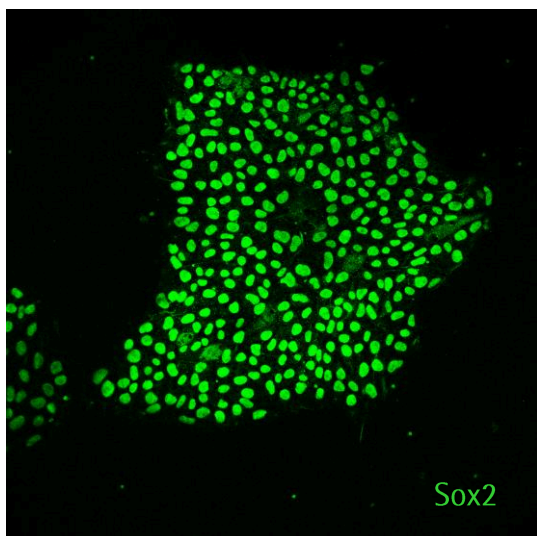
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**



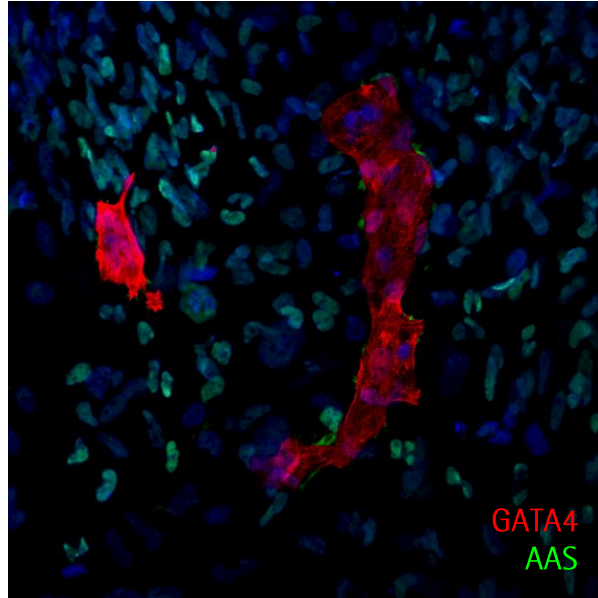
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia  
**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**



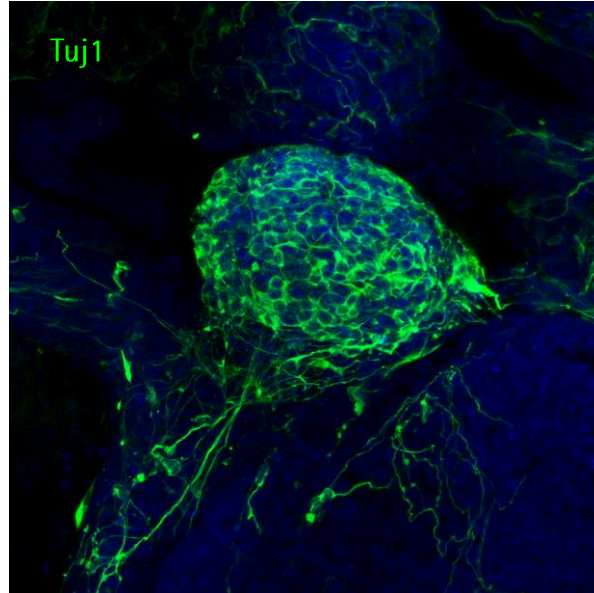


## **Anexo 2**

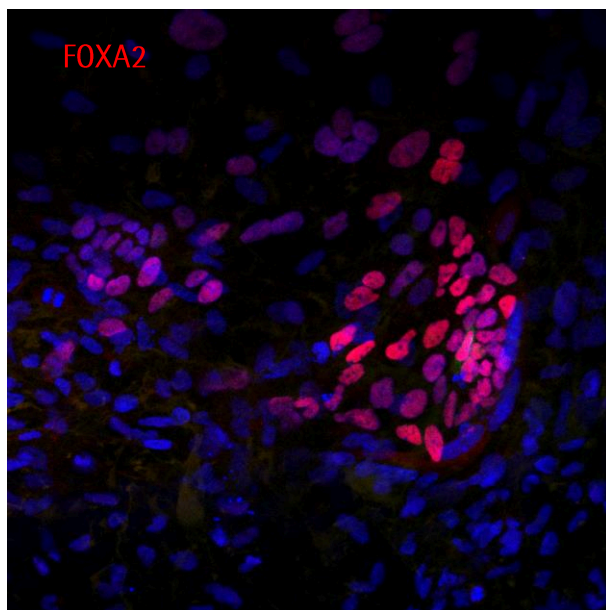
### **Diferenciación *in vitro***



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **GATA4** y **AAS**



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



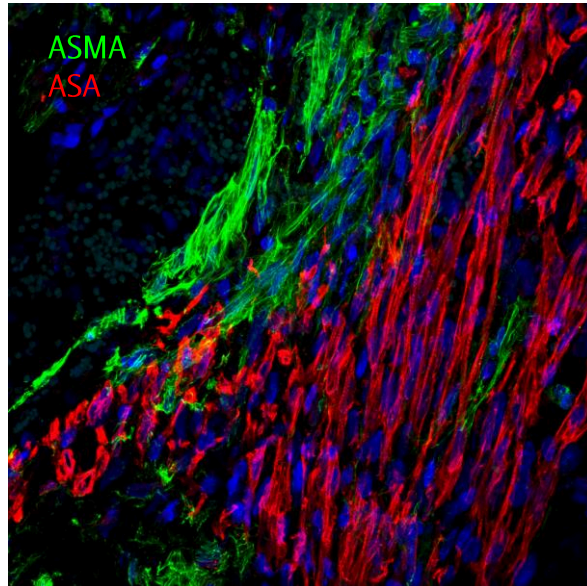
Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **FOXA2**



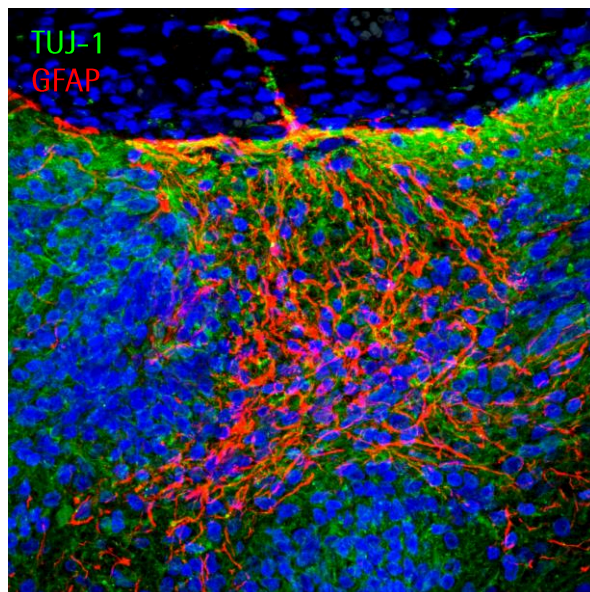


## **Anexo 3**

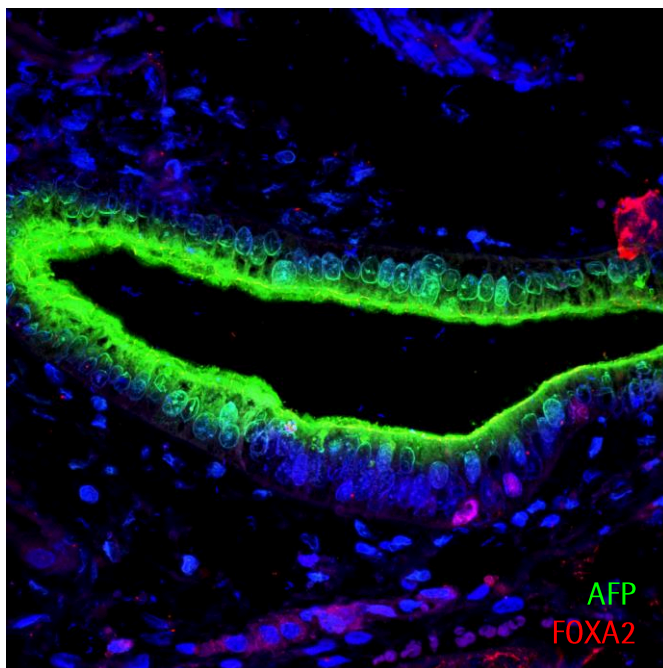
### **Diferenciación *in vivo***



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



Diferenciación *in vivo* a ectodermo: Células positivas para **TUJ1 y GFAP.**



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

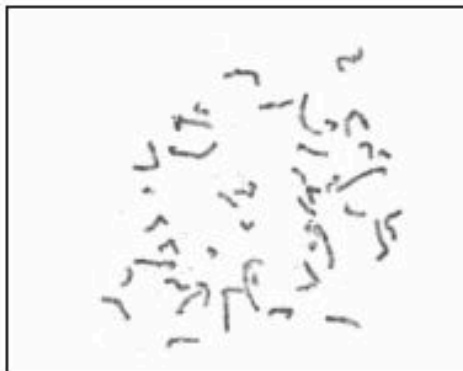
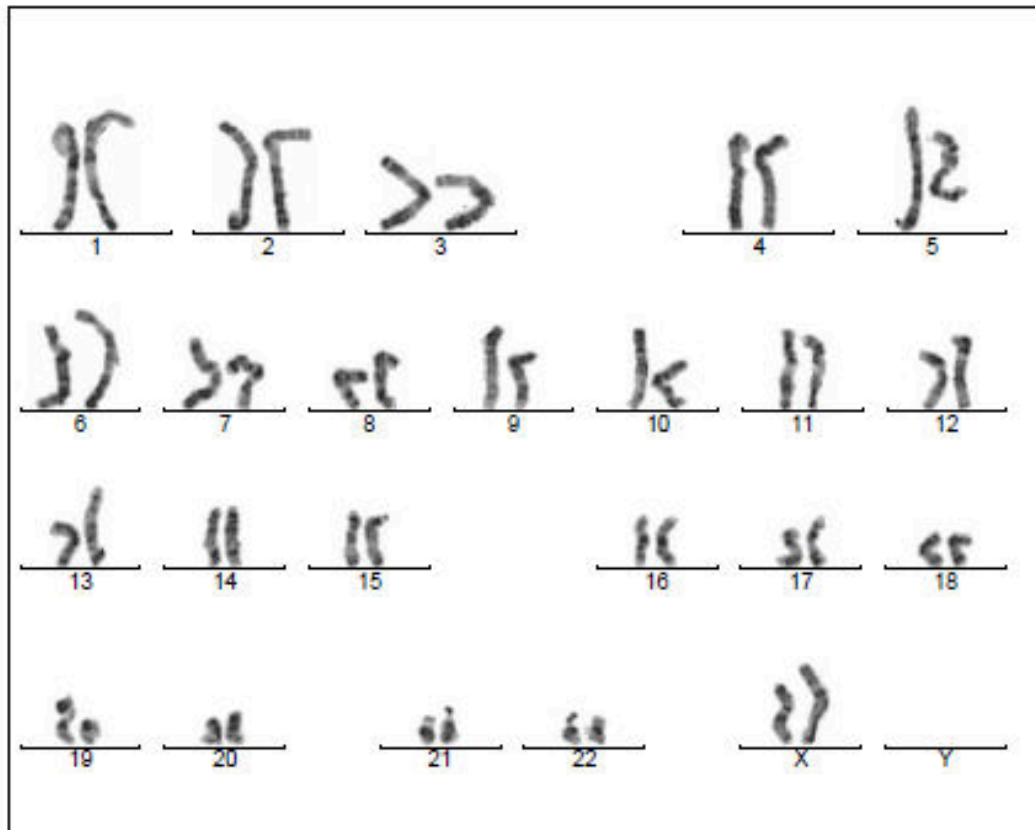




## **Anexo 4**

### **Cariotipo**

## Cytogenetic analysis



Case name: A191104

Patient name: NW FiPS 10II.3-R4F-H1 p14

Specimen type: stem cells

Result: 46,XX



## **Anexo 5**

### **Resultado microsátélites**

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 (figura 1):



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

STR Locus	Label	Size Range of Allele Ladder Components <sup>1</sup> (bases)	Repeat Numbers of Allele Ladder Components
TH01	FL	156-185	4-8, 9.1, 10-11, 12.1
D21S11	FL	209-299	24, 24.1, 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	119-135	7-16
D13S317	JOE	176-208	7-15
D7S820	JOE	215-247	6-14*
D16S539	JOE	204-284	3, 8-13
CSF1PO	JOE	321-357	6-15
Amelogenin	THR	106, 112	X, Y
vWA	THR	125-171	10-22
TPOX	THR	262-280	6-13

<sup>1</sup>The length of each allele in the allele ladder has been confirmed by sequence analysis.

\*When using an internal lane standard, such as the Internal Lane Standard 600, the estimated 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.

\*The vWA allele have a microvariant allele 13.3 at the D16S537 locus. This will appear as an off-ladder allele (see [www.cslbio.com/webase/na...D16S537.htm](http://www.cslbio.com/webase/na...D16S537.htm)).

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
32170479002	NW FIPS10.II.03 R4F-H1 p12

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
NW FIPS10.II.03 R4F-H1 p12	X	10, 13	11, 12	10, 12	30	11, 12	8, 10	7, 9, 3	8	15, 18

Granada, a 31 de Julio de 2017

Laboratorio de Biología Molecular  
Biobanco del SSPA



**RESULTADOS:**

A continuación se detalla la correlación entre el código de muestra de Biobanco y la línea celular procesada:

código Biobanco	Línea celular
32170136002	Fibroblasts NW10.II.3 p3

En la tabla siguiente se muestran los resultados correspondientes a los alelos encontrados para cada uno de los marcadores microsatélites analizados.

Línea celular	Loci STR analizados									
	AMEL	CSF1PO	D13S317	D16S539	D21S11	D5S818	D7S820	TH01	TPOX	vWA
Fibroblasts NW10.II.3 p3	X	10, 13	11, 12	10, 12	30	11, 12	8, 10	7, 9, 3	8	15, 18

Granada, a 14 de Marzo de 2017



Área de Biología Molecular  
Biobanco del ISSPA

Análisis de microsatélites en la línea de células madre pluripotentes NW FiPS 10II.3-R4F-1  
y en la línea de fibroblastos de la cual proceden.

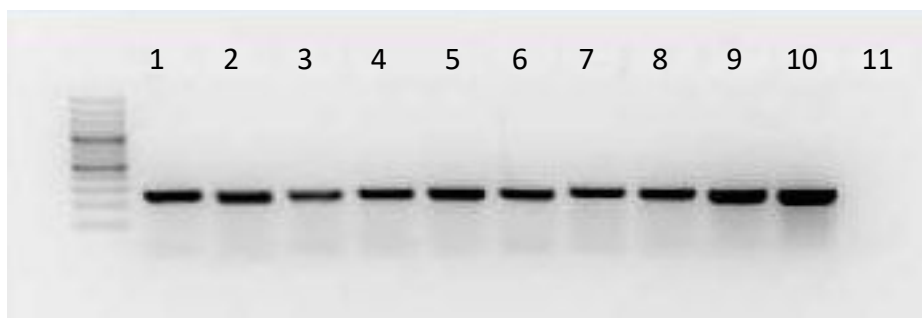


## **Anexo 6**

# **Integración y silenciamiento de los transgenes de reprogramación**

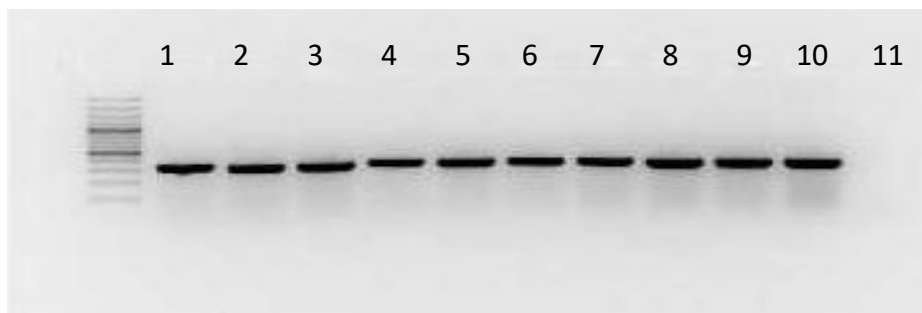
PCR Integration  
4/5/2017

pMXs(FIOctVPHASoxVP-Or)

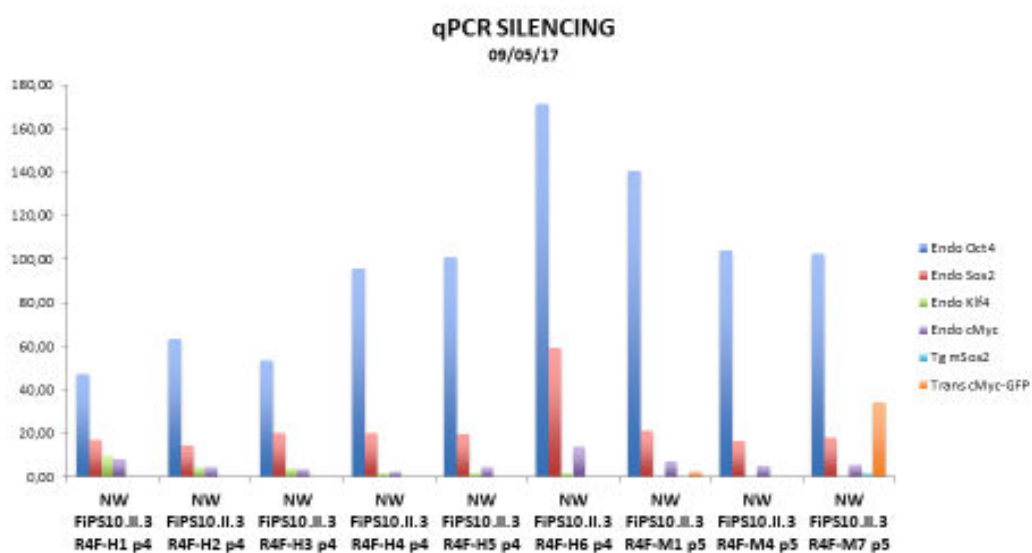


- 1 NW FiPS10.II.3 R4F-H1, P4
- 10. Positive Control
- 11. Negative Control (H<sub>2</sub>O)

pMXs-KM-GFP



Análisis gPCR mostrando las integraciones genómicas de los genes utilizados para generar la línea



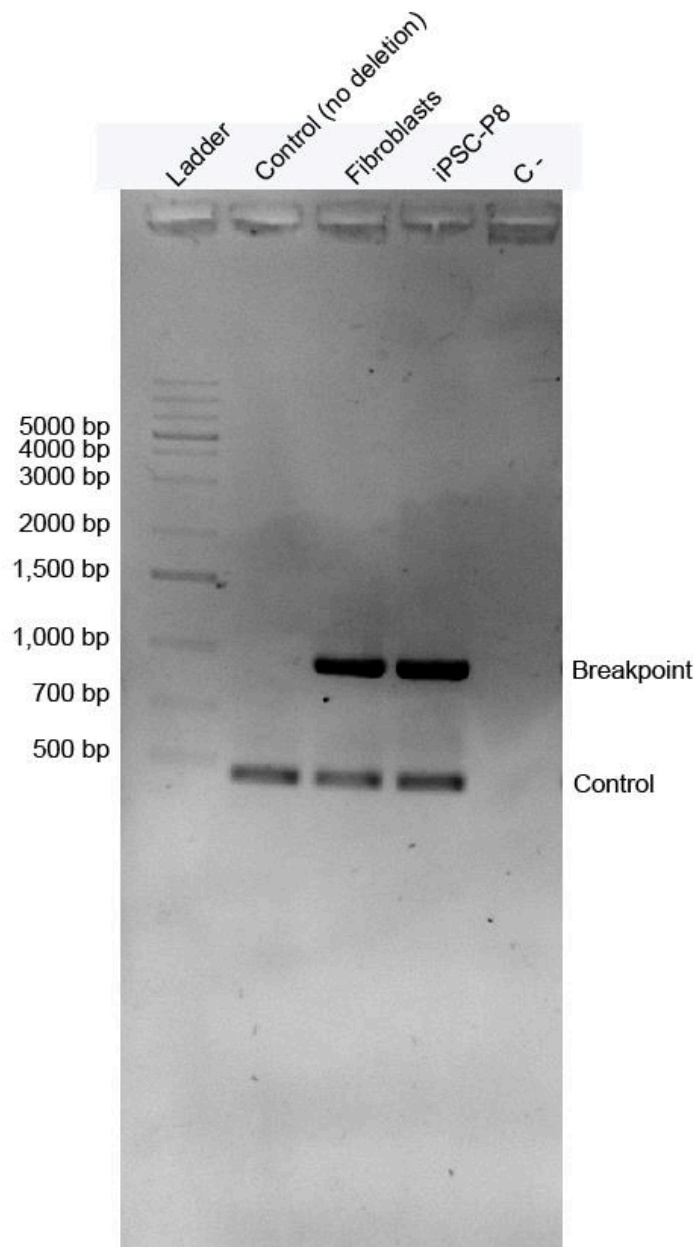
Silenciamiento de los transgenes de reprogramación. Análisis por Q-RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados.





## **Anexo 7**

### **Genotipado**



Se presenta la amplificación por PCR del punto de rotura en muestras de DNA de un individuo control, de fibroblastos del paciente con la deleción de 817kb en 7q11.23 y de la línea del iPSC procedente de este individuo.

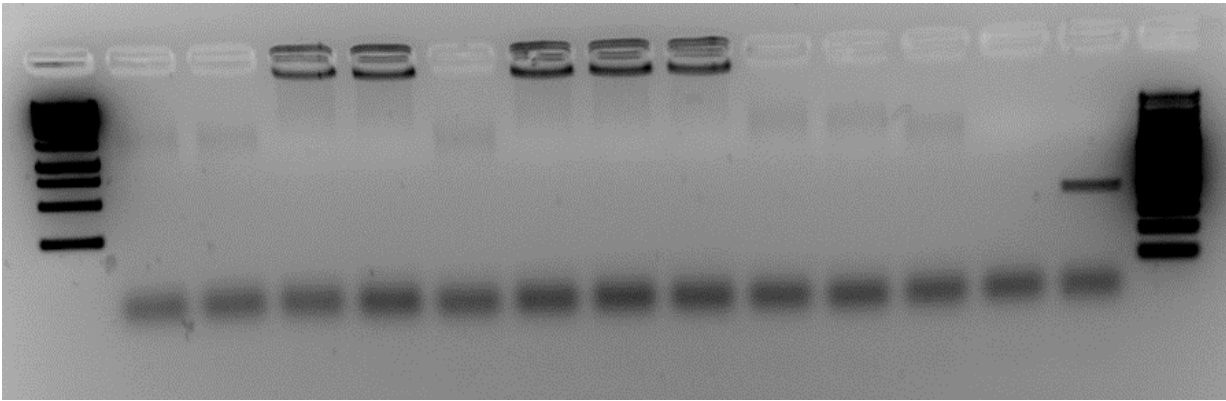


## **Anexo 8**

### **Test de micoplasma**

NWH1

- +



NWH1: NW FiPS10.II.03 R4F-H1, p10, 07.07.17