

## GM04601

### Certificat d'analyse

---

<b>Clone caractérisé :</b>	GM04601-21
<b>Description :</b>	Cellules souches humaines induites à la pluripotence
<b>Statut juridique :</b>	Pour la recherche seulement. Non commercialisable.
<b>Chercheur requérant et institution :</b>	Dr Jack Puymirat, LOEX/CMDGT
<b>Cellules d'origine et description :</b>	GM04601; Fibroblastes
<b>Pathologie :</b>	Dystrophie myotonique de type 1, forme congénitale
<b>Information sur le donneur :</b>	Femme, 2 ans
<b>Méthode de reprogrammation :</b>	Expression des gènes Oct4, Sox2, Klf4 et C-Myc via le virus de Sendai
<b>Recommandation pour la décongélation :</b>	Un cryovial dans 1 pétri (20% et moins) ou 2 pétris (plus de 20%) de 35mm + 10µM de <i>Rock Inhibitor</i> Y-27632
<b>Conditions de cultures :</b>	Milieu : mTeSR™1 (StemCell Technologies; 05850) Matrice : Matrigel™ hESC-Qualified Matrix (Corning; 08-774-552) Passage : à l'EDTA (0.5mM, invitrogen; AM9260G) Environnement : 37°C, 5% CO <sub>2</sub> , >95% RH

Les cellules distribuées par la plateforme iPSC Québec sont destinées à l'utilisation en recherche fondamentale et ne sont pas destinées à l'utilisation chez l'humain.

Des mesures de biosécurité adéquates doivent être suivies afin de travailler avec ces cellules. L'utilisateur final est le seul responsable de s'assurer que ces cellules sont manipulées et entreposées de manières appropriées. La plateforme iPSC Québec n'est pas responsable des dommages ou blessures qui pourraient résulter de l'utilisation de ces cellules.

Tableau n°1 : Caractérisation du clone GM04601-21

Description du test	Méthode	Résultats attendus	Résultats																														
<b>Expression de protéines associées à la pluripotence</b>	Immunofluorescence	Majorité des cellules exprimant les marqueurs intracellulaire (NANOG, OCT4) et ceux de surfaces (TRA-1-60, TRA-1-81, SSEA4)	Fluorescence positive avec tous les anticorps (Figure 1)																														
<b>Quantification de protéine associée à la pluripotence</b>	Analyse par cytométrie de flux	TRA-1-60 > 70% <sup>1</sup>	TRA-1-60 : 99,7% (Figure 2)																														
<b>Expression de gènes reliés à la pluripotence</b>	Analyse par RT-PCR	Présence d'une bande vérifiée sur gel d'agarose.	<table border="0"> <thead> <tr> <th>Gènes</th> <th>Résultats</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>OCT4</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>NANOG</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>DNMT3B</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>TERT</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>REXO1</td> <td>+</td> </tr> </tbody> </table>	Gènes	Résultats	OCT4	+	NANOG	+	DNMT3B	+	TERT	+	REXO1	+																		
Gènes	Résultats																																
OCT4	+																																
NANOG	+																																
DNMT3B	+																																
TERT	+																																
REXO1	+																																
<b>Différenciation dans les trois feuillettes embryonnaires</b>	Formation de corps embryoides suivie de l'analyse par RT-PCR (Après 16 jours différenciation)	Présence d'une bande vérifiée sur gel d'agarose.	<table border="0"> <thead> <tr> <th>Gènes</th> <th>Résultats</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>Ectoderme</b></td> <td>PAX6 + TUBB3 + NCAM +</td> </tr> <tr> <td><b>Endoderme</b></td> <td>SOX17 + AFP + GATA4 +</td> </tr> <tr> <td><b>Mesoderme</b></td> <td>MSX1 + KDR + GATA2 +</td> </tr> </tbody> </table>	Gènes	Résultats	<b>Ectoderme</b>	PAX6 + TUBB3 + NCAM +	<b>Endoderme</b>	SOX17 + AFP + GATA4 +	<b>Mesoderme</b>	MSX1 + KDR + GATA2 +																						
			Gènes	Résultats																													
			<b>Ectoderme</b>	PAX6 + TUBB3 + NCAM +																													
			<b>Endoderme</b>	SOX17 + AFP + GATA4 +																													
<b>Mesoderme</b>	MSX1 + KDR + GATA2 +																																
<b>Test de détection des Mycoplasmes</b>	Détection par PCR <sup>2</sup>	Mycoplasmes non détectés	Non détectés dans les cultures primaires																														
<b>Empreinte génétique par Short Tandem Repeat (STR) Analysis<sup>3</sup></b>	Analyse de 9 STR et de l'amelogenin pour la détermination du sexe	Identiques à la lignée cellulaire d'origine	<p>GM04601-21 est identique à l'échantillon parental des fibroblastes GM04601</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>Amel</td> <td>X</td> <td></td> <td>D5S818</td> <td>12</td> <td>13</td> </tr> <tr> <td>vWA</td> <td>14</td> <td>16</td> <td>D13S317</td> <td>11</td> <td>14</td> </tr> <tr> <td>TPOX</td> <td>8</td> <td>9</td> <td>D7S820</td> <td>8</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>THO1</td> <td>7</td> <td>9</td> <td>D16S539</td> <td></td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>D21S11</td> <td>28</td> <td>30</td> <td>CSF1PO</td> <td></td> <td>11</td> </tr> </tbody> </table>	Amel	X		D5S818	12	13	vWA	14	16	D13S317	11	14	TPOX	8	9	D7S820	8	12	THO1	7	9	D16S539		12	D21S11	28	30	CSF1PO		11
Amel	X		D5S818	12	13																												
vWA	14	16	D13S317	11	14																												
TPOX	8	9	D7S820	8	12																												
THO1	7	9	D16S539		12																												
D21S11	28	30	CSF1PO		11																												
<b>Caryotypage<sup>3</sup></b>	Caryotype moléculaire CytoScan™ HD <sup>4</sup>	Aucun gain ou perte de plus de 5Mb	Caryotype normal à passage 6																														
<b>Test de décongélation</b>	Stéréomicroscope	Au moins 10% de confluence	90% de confluence après 4 jours de culture.																														
<b>Test de détection du génome viral du Sendai</b>	Analyse par RT-PCR	Aucune détection des gènes viraux après 2 mois de culture.	<table border="0"> <thead> <tr> <th>Gènes</th> <th>Résultats</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SeV</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>KOS</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Klf4</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>c-Myc</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>	Gènes	Résultats	SeV	-	KOS	-	Klf4	-	c-Myc	-																				
Gènes	Résultats																																
SeV	-																																
KOS	-																																
Klf4	-																																
c-Myc	-																																

1. Baghbaderani, BA, et al., Detailed Characterization of Human Induced Pluripotent Stem Cells Manufactured for Therapeutic Applications, Stem Cell Rev and Rep (2016) 12:394–420

2. Venor@GeM Mycoplasma PCR Detection Kit, Cederlane, cat# 11-1100

3. Ces analyses ont été effectuées par le laboratoire Génome Québec.

4. ThermoFisher Scientific

Figure n°1 : Expression de protéines associées à la pluripotence par immunofluorescence

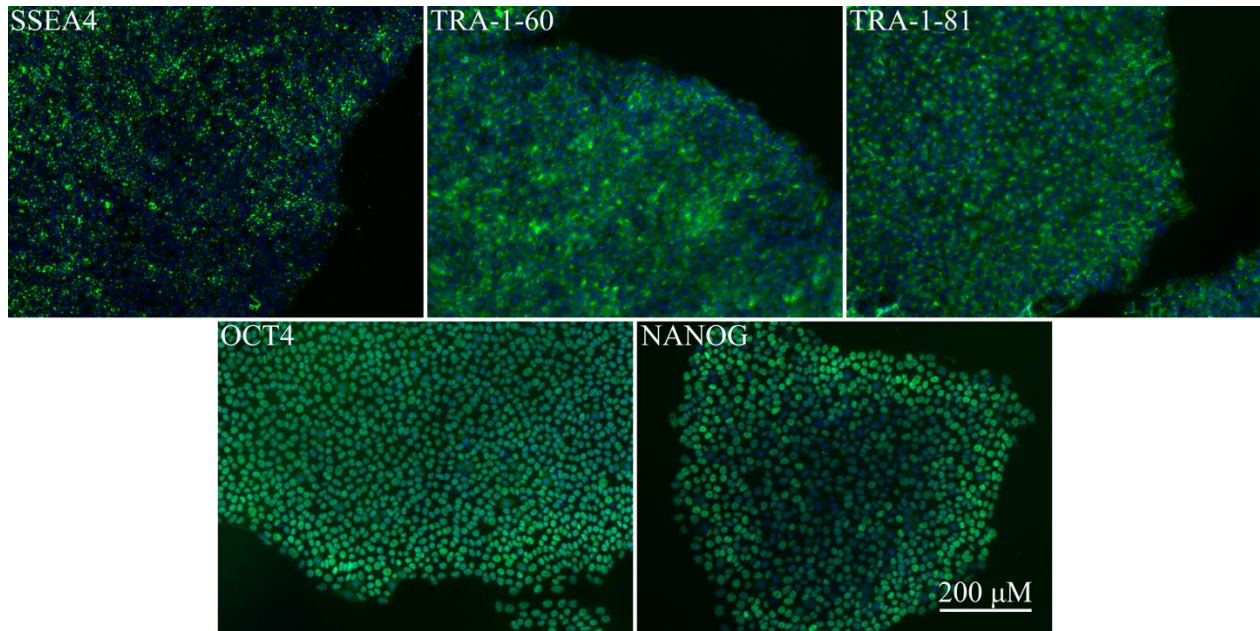
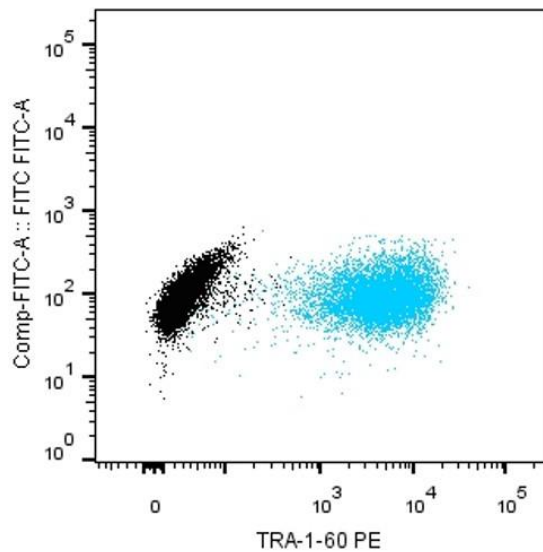


Figure n°2 : Expression de protéine associée à la pluripotence par cytométrie de flux



	Sample Name	Subset Name	Count	Freq. of Parent
■	20181011_4601 TRA.fc	TRA-1-60 positives	6512	99,7
■	20181011_4601 ISO.fcs	Cellules vivantes	7047	94,2

*Laurie Martineau*

---

Laurie Martineau, MSc  
Responsable de la plateforme

Le 12 février 2019

---

Date

*Jack Puymirat*

---

Jack Puymirat, MD, Ph.D.  
Directeur

Le 12 février 2019

---

Date