

## AG09393A

### Certificat d'analyse

---

<b>Clone caractérisé :</b>	AG09393A-3
<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>	AG09393A; Lymphoblastes
<b>Pathologie :</b>	Normal
<b>Information sur le donneur :</b>	Femme
<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 AG09393A

Description du test	Méthode	Résultats attendus	Résultats																														
Expression de protéines associées à la pluripotence	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)																														
Expression de gènes reliés à la pluripotence	Analyse par RT-PCR	Présence d'une bande vérifiée sur gel d'agarose.	<table border="1"> <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	+																																
Différenciation dans les trois feuillet embryonnaires	Formation de corps embryoïdes suivie de l'analyse par RT-PCR (Après 16 jours différenciation)	Présence d'une bande vérifiée sur gel d'agarose.	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Gènes</th> <th>Résultats</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3"><b>Ectoderme</b></td> <td>PAX6</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>TUBB3</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>NCAM</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td rowspan="2"><b>Endoderme</b></td> <td>SOX17</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>AFP</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td rowspan="3"><b>Mesoderme</b></td> <td>GATA4</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>MSX1</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>KDR</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td></td> <td>GATA2</td> <td>+</td> </tr> </tbody> </table>		Gènes	Résultats	<b>Ectoderme</b>	PAX6	+	TUBB3	+	NCAM	+	<b>Endoderme</b>	SOX17	+	AFP	+	<b>Mesoderme</b>	GATA4	+	MSX1	+	KDR	+		GATA2	+					
				Gènes	Résultats																												
			<b>Ectoderme</b>	PAX6	+																												
				TUBB3	+																												
NCAM	+																																
<b>Endoderme</b>	SOX17	+																															
	AFP	+																															
<b>Mesoderme</b>	GATA4	+																															
	MSX1	+																															
	KDR	+																															
	GATA2	+																															
Test de détection des Mycoplasmes	Détection par PCR <sup>1</sup>	Mycoplasmes non détectés	Non détectés dans les cultures primaires																														
Empreinte génétique par Short Tandem Repeat (STR) Analysis <sup>2</sup>	Analyse de 9 STR et de l'amelogenin pour la détermination du sexe	Identiques à la lignée cellulaire d'origine	<p>AG09393A-3 est identique à l'échantillon parental des lymphoblastes AG09393A</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>X</th> <th>Y</th> <th>D5S818</th> <th>11</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Amel</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>vWA</td> <td>17</td> <td>18</td> <td>D13S317</td> <td>13 14</td> </tr> <tr> <td>TPOX</td> <td>8</td> <td>11</td> <td>D7S820</td> <td>9 11</td> </tr> <tr> <td>TH01</td> <td>6</td> <td></td> <td>D16S539</td> <td>8 12</td> </tr> <tr> <td>D21S11</td> <td>29</td> <td>33.2</td> <td>CSF1PO</td> <td>12 13</td> </tr> </tbody> </table>		X	Y	D5S818	11	Amel					vWA	17	18	D13S317	13 14	TPOX	8	11	D7S820	9 11	TH01	6		D16S539	8 12	D21S11	29	33.2	CSF1PO	12 13
	X	Y	D5S818	11																													
Amel																																	
vWA	17	18	D13S317	13 14																													
TPOX	8	11	D7S820	9 11																													
TH01	6		D16S539	8 12																													
D21S11	29	33.2	CSF1PO	12 13																													
Caryotypage <sup>2</sup>	Caryotype moléculaire CytoScan™ HD <sup>3</sup>	Aucun gain ou perte de plus de 5Mb	Caryotype normal à passage 4																														
Test de décongélation	Stéréomicroscope	Au moins 10% de confluence	50% de confluence après 3 jours de culture.																														
Test de détection du génome viral du Sendai	Analyse par RT-PCR	Aucune détection des gènes viraux après 2 mois de culture.	<table border="1"> <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	-																																

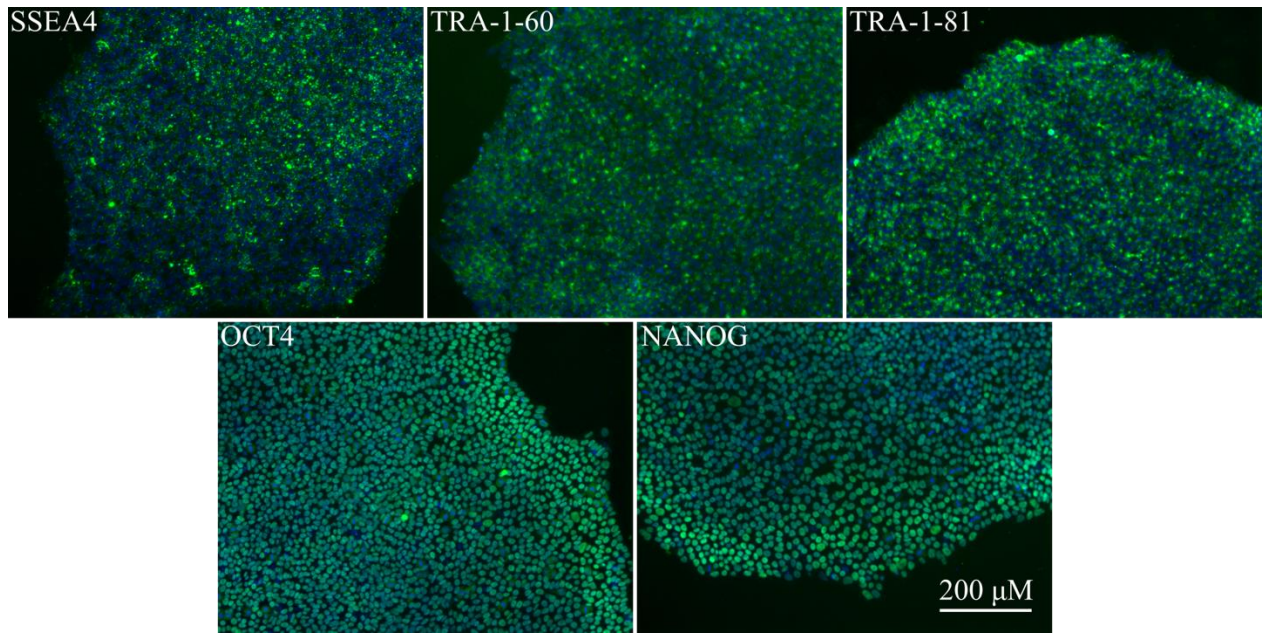
<sup>1</sup> Venor@GeM Mycoplasma PCR Detection Kit, Cederlane, cat# 11-1100

<sup>2</sup> Ces analyses ont été effectuées par le laboratoire Génome Québec.

<sup>3</sup> ThermoFisher Scientific

<sup>4</sup> The time needed to derive vector-free iPSCs may vary depending on culture and passage conditions. (User Guide: CytoTune-iPS 2.0 Sendai Reprogramming Kit)

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



---

*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