

AG09393A

Certificat d'analyse

Clone caractérisé :	AG09393A-3
Description :	Cellules souches humaines induites à la pluripotence
Statut juridique :	Pour la recherche seulement. Non commercialisable.
Chercheur requérant et institution :	Dr Jack Puymirat, LOEX/CMDGT
Cellules d'origine et description :	AG09393A; Lymphoblastes
Pathologie :	Normal
Information sur le donneur :	Femme
Méthode de reprogrammation :	Expression des gènes Oct4, Sox2, Klf4 et C-Myc via le virus de Sendai
Recommandation pour la décongélation :	Un cryovial dans 1 pétri (20% et moins) ou 2 pétris (plus de 20%) de 35mm + 10µM de <i>Rock Inhibitor</i> Y-27632
Conditions de cultures :	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 ₂ , >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">Ectoderme</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">Endoderme</td> <td>SOX17</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>AFP</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Mesoderme</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	Ectoderme	PAX6	+	TUBB3	+	NCAM	+	Endoderme	SOX17	+	AFP	+	Mesoderme	GATA4	+	MSX1	+	KDR	+		GATA2	+											
				Gènes	Résultats																																		
			Ectoderme	PAX6	+																																		
				TUBB3	+																																		
NCAM	+																																						
Endoderme	SOX17	+																																					
	AFP	+																																					
Mesoderme	GATA4	+																																					
	MSX1	+																																					
	KDR	+																																					
	GATA2	+																																					
Test de détection des Mycoplasmes	Détection par PCR ¹	Mycoplasmes non détectés	Non détectés dans les cultures primaires																																				
Empreinte génétique par Short Tandem Repeat (STR) Analysis ²	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> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Amel</td> <td></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</td> <td>14</td> </tr> <tr> <td>TPOX</td> <td>8</td> <td>11</td> <td>D7S820</td> <td>9</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>TH01</td> <td>6</td> <td></td> <td>D16S539</td> <td>8</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>D21S11</td> <td>29</td> <td>33.2</td> <td>CSF1PO</td> <td>12</td> <td>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 ²	Caryotype moléculaire CytoScan™ HD ³	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	-																																						

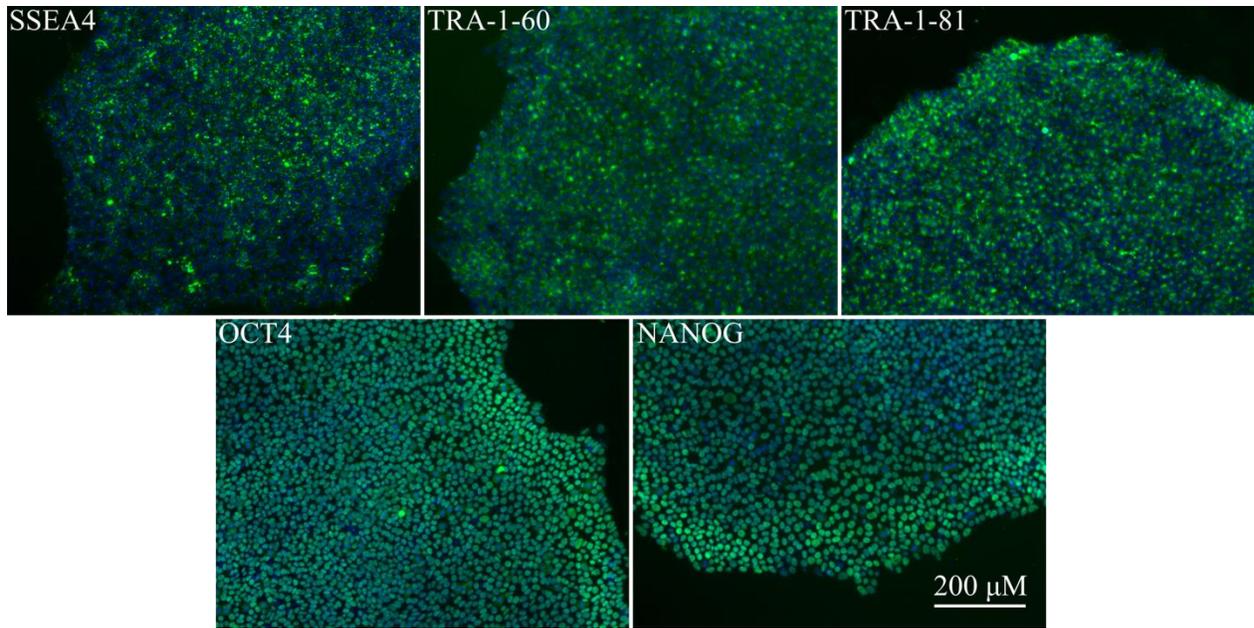
¹ Venor@GeM Mycoplasma PCR Detection Kit, Cederlane, cat# 11-1100

² Ces analyses ont été effectuées par le laboratoire Génome Québec.

³ ThermoFisher Scientific

⁴ 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