

GM00498E

Certificat d'analyse

Clone caractérisé :	GM00498E-1
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 :	GM00498E; Fibroblastes
Pathologie :	Normal
Information sur le donneur :	Homme, 3 ans
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 GM00498E-1

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)																														
Quantification de protéine associée à la pluripotence	Analyse par cytométrie de flux	TRA-1-60 > 70% ¹	TRA-1-60 : 99,1% (Figure 2)																														
Expression de gènes reliés à la pluripotence	Analyse par RT-PCR	Présence d'une bande vérifié 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	+																																
Différenciation dans les trois feuilletts embryonnaires	Formation de corps embryoides suivie de l'analyse par RT-PCR (Après 16 jours différenciation)	Présence d'une bande vérifié sur gel d'agarose.	<table border="0"> <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="3">Endoderme</td> <td>SOX17</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>AFP</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>GATA4</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Mesoderme</td> <td>MSX1</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>KDR</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>GATA2</td> <td>+</td> </tr> </tbody> </table>		Gènes	Résultats	Ectoderme	PAX6	+	TUBB3	+	NCAM	+	Endoderme	SOX17	+	AFP	+	GATA4	+	Mesoderme	MSX1	+	KDR	+	GATA2	+						
				Gènes	Résultats																												
			Ectoderme	PAX6	+																												
				TUBB3	+																												
NCAM	+																																
Endoderme	SOX17	+																															
	AFP	+																															
	GATA4	+																															
Mesoderme	MSX1	+																															
	KDR	+																															
	GATA2	+																															
Test de détection des Mycoplasmes	Détection par PCR ²	Mycoplasmes non détectés	Non détectés dans les cultures primaires																														
Empreinte génétique par Short Tandem Repeat (STR) Analysis³	Analyse de 9 STR et de l'amelogenin pour la détermination du sexe	Identiques à la lignée cellulaire d'origine	<p>GM00498E-1 est identique à l'échantillon parental des fibroblastes GM00498E</p> <table border="0"> <tbody> <tr> <td>Amel</td> <td>X</td> <td>Y</td> <td>D5S818</td> <td>11</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>vWA</td> <td>19</td> <td></td> <td>D13S317</td> <td>11</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>TPOX</td> <td>8</td> <td>11</td> <td>D7S820</td> <td>8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TH01</td> <td>9,3</td> <td></td> <td>D16S539</td> <td>8</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>D21S11</td> <td>28</td> <td>29</td> <td>CSF1PO</td> <td>10</td> <td>11</td> </tr> </tbody> </table>	Amel	X	Y	D5S818	11	12	vWA	19		D13S317	11	12	TPOX	8	11	D7S820	8		TH01	9,3		D16S539	8	12	D21S11	28	29	CSF1PO	10	11
Amel	X	Y	D5S818	11	12																												
vWA	19		D13S317	11	12																												
TPOX	8	11	D7S820	8																													
TH01	9,3		D16S539	8	12																												
D21S11	28	29	CSF1PO	10	11																												
Caryotypage³	Caryotype moléculaire CytoScan™ HD ⁴	Aucun gain ou perte de plus de 5Mb	Caryotype normal à passage 6																														
Test de décongélation	Stéréomicroscope	Au moins 10% de confluence	70% de confluence après 4 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="0"> <thead> <tr> <th>Gènes</th> <th>Résultats</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SeV</td> <td>+, très faible expression⁵</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	+, très faible expression ⁵	KOS	-	Klf4	-	c-Myc	-																				
Gènes	Résultats																																
SeV	+, très faible expression ⁵																																
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

5. 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

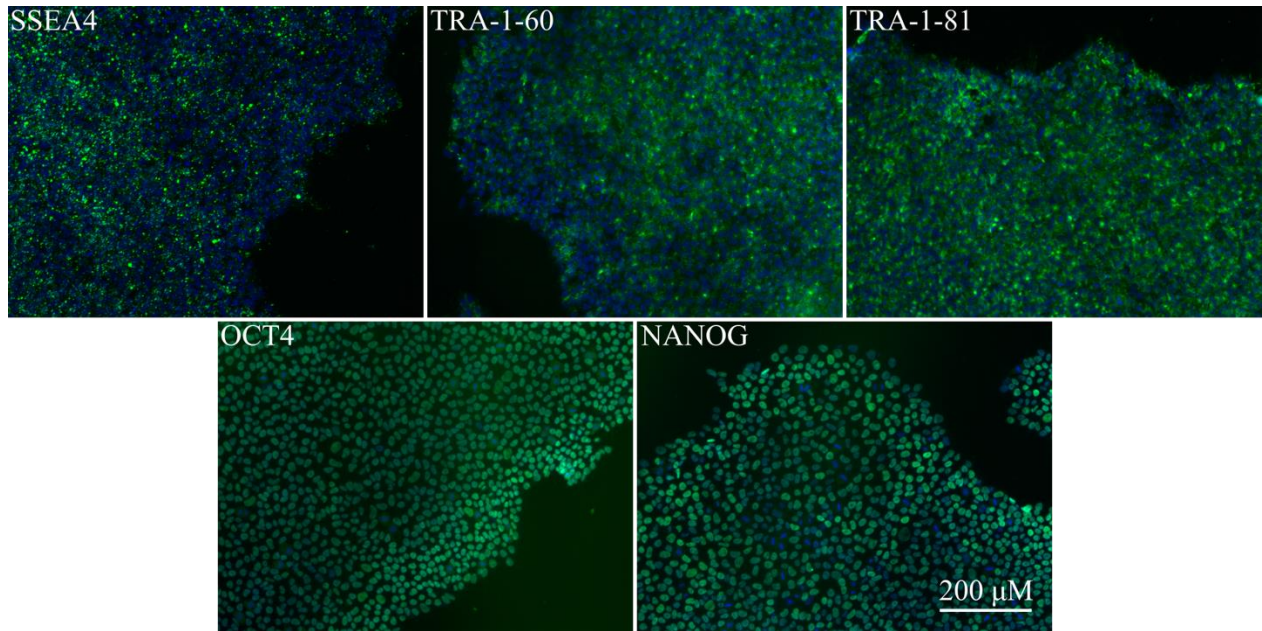
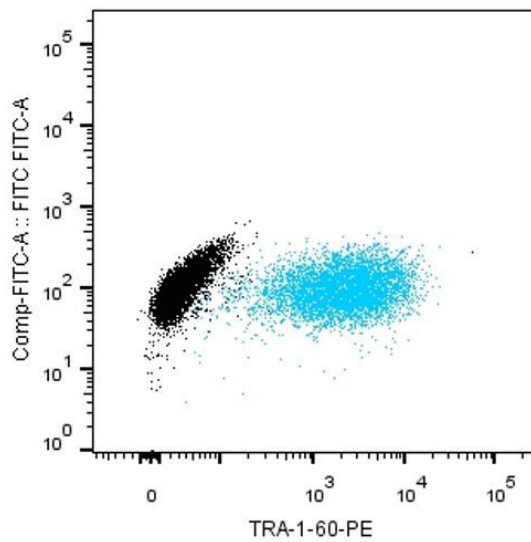


Figure n°2 : Expression de protéine associée à la pluripotence par cytométrie de flux



Sample Name	Subset Name	Count	Freq. of Parent
20181011_498 TRA.fcs	TRA-1-60 positives	5334	99,1
20181011_498 ISO.fcs	Cellules vivantes	6437	93,8

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