

Caractérisation de la lignée cellulaire CHUQi001

Clone caractérisé :	CHUQi001-A
Description :	Cellules souches humaines induites à la pluripotence
Statut juridique :	Pour la recherche seulement. Non commercialisable.
Chercheur requérant et institution :	Dr. Jack Puymirat, CRCHU de Québec – Université Laval
Cellules d'origine et description :	522-2666, Lymphoblastoïdes
Pathologie :	Dystrophie myotonique de type 1 (DM1)
Information sur le donneur :	Homme
Méthode de reprogrammation :	Expression des gènes Oct4, Sox2, Klf4 et C-Myc via le virus de Sendai
Recommandation pour la décongélation :	Un cryovial dans 2 pétris 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 : EDTA (0,5mM, Invitrogen; AM92602G) 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 CHUQi001-A

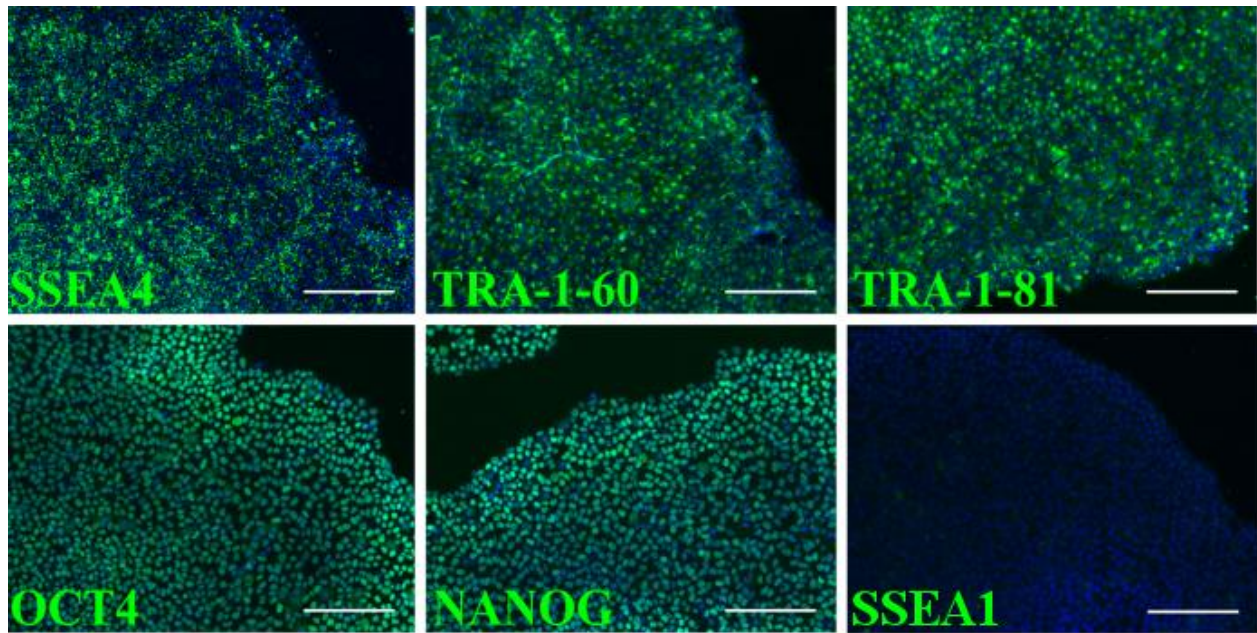
Description du test	Méthode	Résultats attendus	Résultats																																																						
Expression de protéines associées à la pluripotence	Immunofluorescence	Majorité des cellules exprimant les marqueurs intracellulaire (Nanog, Oct4) et ceux de surfaces (TRA-1-60, TRA-1-81, SSEA4)	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="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>Dnm3tb</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>hTERT</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Rex1</td> <td>+</td> </tr> </tbody> </table>	Gènes	Résultats	Oct4	+	Nanog	+	Dnm3tb	+	hTERT	+	Rex1	+																																										
Gènes	Résultats																																																								
Oct4	+																																																								
Nanog	+																																																								
Dnm3tb	+																																																								
hTERT	+																																																								
Rex1	+																																																								
Différenciation dans les trois feuillets embryonnaires	Formation de corps embryoides suivie de l'analyse par RT-PCR (Après 16 jours de différenciation)	Présence d'une bande vérifiée 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>b-tubulin</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>Flk1</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Gata2</td> <td>+</td> </tr> </tbody> </table>		Gènes	Résultats	Ectoderme	Pax6	+	b-tubulin	+	NCAM	+	Endoderme	Sox17	+	AFP	+	Gata4	+	Mesoderme	Msx1	+	Flk1	+	Gata2	+																														
				Gènes	Résultats																																																				
			Ectoderme	Pax6	+																																																				
				b-tubulin	+																																																				
NCAM	+																																																								
Endoderme	Sox17	+																																																							
	AFP	+																																																							
	Gata4	+																																																							
Mesoderme	Msx1	+																																																							
	Flk1	+																																																							
	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) Analysis²	Analyse de 15 STR et de l'amelogenin pour la détermination du sexe	Identiques à la lignée cellulaire d'origine	<p>CHUQi001-A est identique à l'échantillon parental des lymphoblastoïdes 522-2666</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>X</th> <th>Y</th> <th>D18S51</th> <th>10</th> <th>14</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Amel</td> <td></td> <td></td> <td>Penta E</td> <td>7</td> <td></td> </tr> <tr> <td>vWA</td> <td>16</td> <td></td> <td>D5S818</td> <td>11</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>D8S1179</td> <td>10</td> <td>14</td> <td>D13S317</td> <td>12</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TPOX</td> <td>11</td> <td></td> <td>D7S820</td> <td>7</td> <td>9</td> </tr> <tr> <td>FGA</td> <td>20</td> <td>23</td> <td>D16S539</td> <td>9</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>D3S1358</td> <td>16</td> <td>17</td> <td>CSF1PO</td> <td>10</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>TH01</td> <td>7</td> <td>9.3</td> <td>Penta D</td> <td>13</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D21S11</td> <td>27</td> <td>29</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		X	Y	D18S51	10	14	Amel			Penta E	7		vWA	16		D5S818	11	12	D8S1179	10	14	D13S317	12		TPOX	11		D7S820	7	9	FGA	20	23	D16S539	9	12	D3S1358	16	17	CSF1PO	10	11	TH01	7	9.3	Penta D	13		D21S11	27	29			
	X	Y	D18S51	10	14																																																				
Amel			Penta E	7																																																					
vWA	16		D5S818	11	12																																																				
D8S1179	10	14	D13S317	12																																																					
TPOX	11		D7S820	7	9																																																				
FGA	20	23	D16S539	9	12																																																				
D3S1358	16	17	CSF1PO	10	11																																																				
TH01	7	9.3	Penta D	13																																																					
D21S11	27	29																																																							
Caryotypage²	Hybridation génomique comparative sur puce (aCGH) ³	Aucun gain ou perte de plus de 5Mb	Caryotype normal à passage 8																																																						
Test de décongélation	Stéréomicroscope	Au moins 10% de confluence	Plus de 40% 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="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 Venor®GeM Mycoplasma PCR Detection Kit, Cederlane, cat# 11-1100

² Ces analyses ont été effectuées par le laboratoire Cell Line Genetics Inc

³ Elliott, A. M., Hohenstein Elliott, K. M., Kammesheidt, A. (2010). High Resolution Array-CGH Characterization of Human Stem Cells Using a Stem Cell Focused Microarray. *Mol Biotechnol*, 46, 234–242.

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



Laurie Martineau

Laurie Martineau, MSc
Responsable de la plateforme

Le 01 juin 2017

Date

Jack Puymirat

Jack Puymirat, MD, Ph.D.
Directeur

Le 02 juin 2017

Date