

Đông lạnh tế bào gốc từ mô mỡ “off-the-shelf” tại -86 độ C sử dụng CryoSave III

Quy trình đơn giản

Quy trình đông lạnh và rã đông đơn giản. Đông lạnh không cần sử dụng hệ thống hạ lạnh theo chương trình. Rã đông vô cùng đơn giản với hình thức rã đông tự nhiên mà không cần sử dụng bể ổn nhiệt 37 độ C để rã đông. Do đó tế bào sau khi đông lạnh có thể rã đông bất kì nơi đâu.

Không cần nitơ lỏng

Tế bào gốc từ mô mỡ người có thể sống sót với tỉ lệ cao sau rã đông khi bảo quản ở -86 độ C (sử dụng tủ đông) và vận chuyển trong đá khô CO2 mà không cần trữ trong các bình chứa nitơ lỏng phức tạp và tốn kém.

Hiệu quả cao

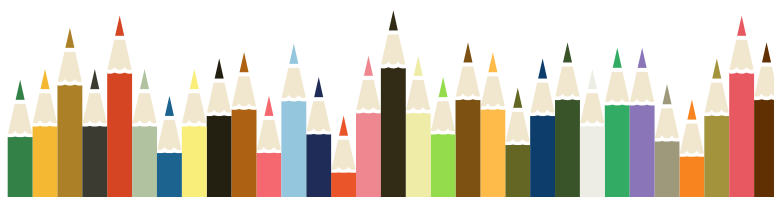
CryoSave III hoàn toàn không sử dụng DMSO hay bất kì chất bảo quản thay thế nào. Thành phần của CryoSave III là xác định, tất cả các thành phần của CryoSave III là an toàn và đạt tiêu chuẩn USP cho sử dụng lâm sàng. Tế bào gốc trung mô từ mô mỡ đạt tỉ lệ sống cao sau khi rã đông (hơn 60% sau 6 tháng bảo quản ở -86 độ C) hoàn hảo cho sản xuất thuốc tế bào gốc.



Giới thiệu

Tế bào gốc từ mô mỡ người là loại tế bào gốc trưởng thành phổ biến và có ứng dụng lâm sàng rộng rãi trong thời gian gần đây. Tế bào gốc mô mỡ đã ứng dụng trong điều trị và hỗ trợ điều trị các bệnh đái tháo đường, bệnh Chron, bệnh xơ gan, bệnh thoái hoá khớp, bệnh tắt nghẽn phổi mạn tính... Phát triển thuốc tế bào gốc từ tế bào gốc mô mỡ đang được quan tâm ở nhiều quốc gia.

Trong công nghệ sản xuất thuốc tế bào gốc hay tế bào gốc off-the-shelf, việc bảo quản tế bào gốc đang là thách thức lớn cho các công ty hay các phòng thí nghiệm sản xuất thuốc tế bào gốc. Thật vậy, phần lớn các dung dịch bảo quản được sản xuất hiện nay chứa các chất bảo quản có tính độc cao với cơ thể bệnh nhân như DMSO, hơn nữa các thành phần của sản phẩm không phù hợp với tiêu chuẩn của sản phẩm sử dụng cho tiêm truyền trên người. Bên cạnh đó, việc bảo quản tế





Tóm tắt quy trình

- 01 Tế bào gốc trung mô từ mô mỡ đang phát triển tốt ở thể hệ cấy chuyên 3-8
- 02 Tách và huyền phù tế bào trong dung dịch đông lạnh CryoSave III tại mật độ $1-2 \cdot 10^6$ tế bào/mL
- 03 Chuyển huyền phù tế bào trên vào dụng cụ bảo quản đông lạnh
- 04 Đặt ống/lọ chứa huyền phù tế bào vào tủ mát ở nhiệt độ 4 °C trong 30 phút
- 05 Chuyển các ống/lọ trên sang tủ đông tại -20 °C trong 1 giờ
- 06 Chuyển các ống/lọ trên sang tủ đông -80°C

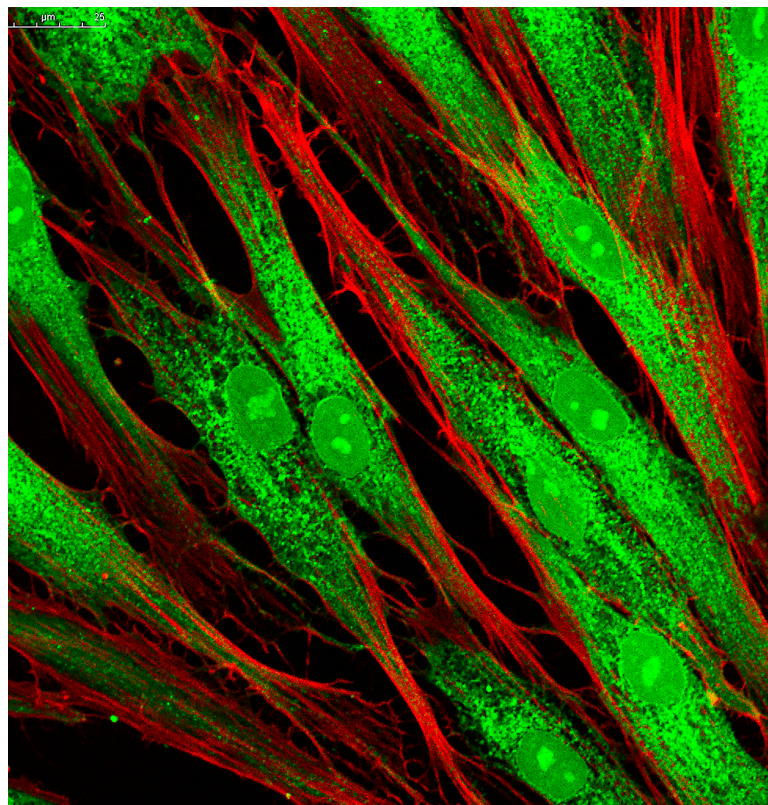
bào gốc từ mô mỡ trong dung dịch này cần phải trữ tế bào ở nhiệt độ lạnh sâu (-196 độ C, trong bình nitơ lỏng). Với các dung dịch bảo quản tế bào này, việc ứng dụng của các sản phẩm thuốc tế bào gốc gặp rất nhiều khó khăn bởi lẽ tại đơn vị sử dụng, các sản phẩm thuốc cần phải được rửa để loại bỏ dung dịch bảo quản.

Công nghệ CryoSave III loại bỏ hoàn toàn chất bảo quản DMSO và không dùng bất kì chất bảo quản lạnh nào để thay thế DMSO. CryoSave III không dùng huyết thanh, không dùng protein động vật, tất cả các thành phần của CryoSave III là xác định và đạt tiêu chuẩn USP cho dược phẩm.

Bài viết này giới thiệu quy trình đông lạnh tế bào gốc từ mô mỡ người trong -86 độ C phục vụ cho sản xuất sản phẩm off-the-shelf từ tế bào gốc từ mô mỡ người.

Quy trình

Tế bào gốc từ mô mỡ người được nuôi phát triển tốt trong môi trường ADSCCult I (Regenmedlab) hay MSCCult I (Regenmedlab). Khi tế bào đạt mật độ 70-80% diện tích bề mặt dụng cụ nuôi, tiến hành tách thu tế bào đơn bằng dung dịch Deattachment (Regenmedlab). Rửa tế bào bằng dung dịch Washing buffer (Regenmedlab). Cặn tế bào thu được



được huyền phù trong dung dịch bảo quản CryoSave III sao cho đạt mật độ 1-2 triệu tế bào trong 1 mL CryoSave III. Tiến hành chia huyền phù tế bào vào chai thủy tinh bảo quản tế bào với lượng 5 mL/chai.

Quy trình hạ lạnh: đặt chai chứa huyền phù tế bào vào tủ mát 2-8 độ C trong 30 phút; sau đó chuyển chai này vào -40 độ C trong 60 phút; cuối cùng chuyển các chai này vào tủ đông -86 độ C.

Tiến hành rã đông các chai chứa tế bào gốc trung mô sau các mốc thời gian 2 tháng, 4 tháng, 6 tháng, 8 tháng, 10 tháng và 12 tháng.

Tế bào được rã đông bằng quy trình rã đông tự nhiên: chai chứa tế bào đặt ở nhiệt độ phòng, bổ sung thêm 5 mL dung dịch ThawBest (tỉ lệ 1:1 giữa CryoSave III và ThawBest).

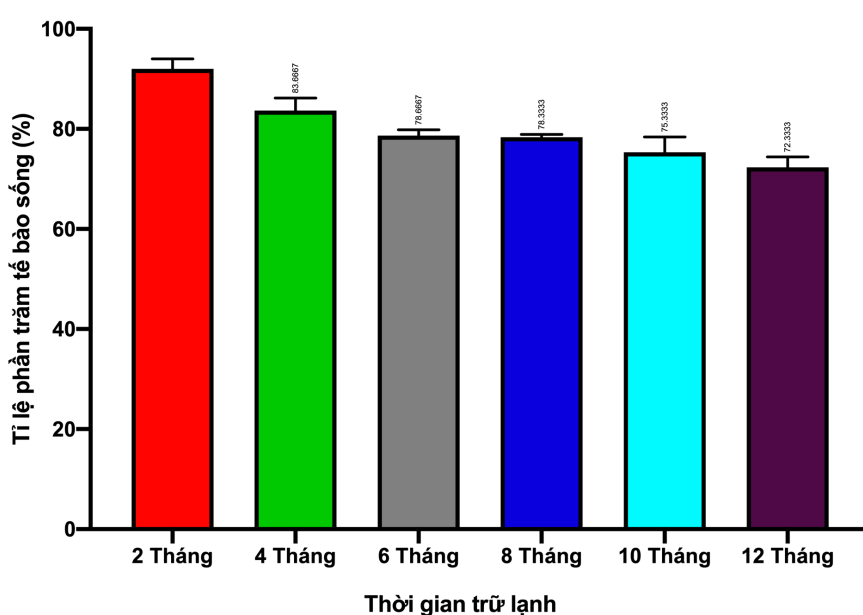
Xác định tỉ lệ tế bào sống bằng cách nhuộm với thuốc nhuộm Propidium iodide (PI) và xác định tỉ lệ tế bào sống bằng cách phân tích flow cytometry sử dụng máy FACSCalibur (BD Bioscience). Ở mỗi mốc thời gian có 3 lọ tế bào được rã đông, tỉ lệ tế bào sống được tính trung bình cho 3 mẫu.

Kết quả

Tỉ lệ tế bào sống sau rã đông được trình bày trong Bảng 1 và Hình 1. Kết quả cho thấy tỉ lệ tế bào gốc mô mỡ sống giảm dần theo thời gian.

Bảng 1. Tỉ lệ phần trăm tế bào gốc trung mô từ mô mỡ sống sau

Thời gian trữ lạnh (tháng)	2	4	6	8	10	12
Tỉ lệ phần trăm tế bào sống (%); Mean (SD)	92.00 (2.00)	83.67 (2.52)	78.67 (1.15)	78.33 (0.58)	75.33 (3.06)	72.33 (2.08)



Hình 1. Tỉ lệ tế bào gốc trung mô từ mô mỡ còn sống sau khi đông lạnh và rã đông.

Kết luận

Tế bào gốc trung mô từ mô mỡ có thể sống sót tốt trong môi trường CryoSave III; sau 6 tháng (78,67%) và 12 tháng (72,33%). Với tỉ lệ này CryoSave III phù hợp sử dụng trong quy trình sản xuất thuốc tế bào gốc.

Các hoá chất sử dụng trong quy trình

Tên hoá chất	Cat. No
ADSCCult I	
Deattachment	
CryoSave III	
AfterFreeze	
Washing Buffer	

Contact Us**Address****Phone:**

B23 Building

Email: cipp@sci.edu.vn

Stem Cell Institute

Web: www.cipp.com.vnUniversity of Science, Vietnam National University
Ho Chi Minh City, Viet Nam
Linh Trung Ward, Thu Duc District
Ho Chi Minh City, Viet Nam