



# CÔNG NGHỆ ĐÔNG LẠNH TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ OFF-THE-SHELF

MSCCRYOSAVE OTS

MSCCRYOSAVE OTS<sup>TH</sup>

Afterfreeze 1

Afterfreeze 2



**Website:**  
biomedmart.com.vn  
biomedmart.org

**Email:** contact@sci.edu.vn  
sales@sci.edu.vn  
kinhdoanh@sci.edu.vn

# MỞ ĐẦU

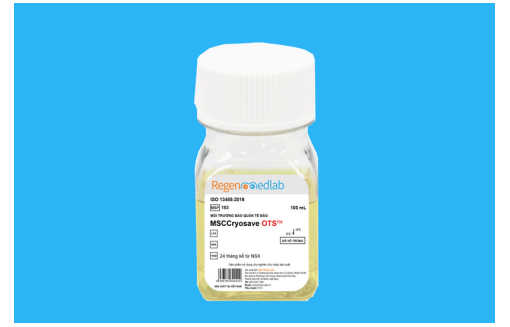
Đông lạnh và rã đông là hai khâu quan trọng trong quy trình sản xuất các sản phẩm tế bào gốc trung mô off-the-shelf phục vụ ứng dụng lâm sàng trực tiếp trên người. Chất lượng của sản phẩm được quyết định bởi khả năng duy trì trạng thái sống, tính ổn định sinh học và hạn chế các tổn thương tế bào phát sinh trong quá trình bảo quản, rã đông và phối trộn trước sử dụng, đặc biệt là sốc nhiệt, sốc thẩm thấu và tổn thương màng tế bào.

Trong mô hình off-the-shelf, bộ môi trường đông lạnh và rã đông giữ vai trò như một thành phần của công nghệ bảo vệ tế bào gốc trung mô trong điều kiện lưu trữ lạnh sâu và hỗ trợ chuyển đổi tế bào sang trạng thái sinh lý phù hợp trước khi ứng dụng lâm sàng.

Chủng loại	Mã sản phẩm
<b>MSCCryosave OTS</b>	182, 185
<b>MSCCryosave OTS<sup>TH</sup></b>	111, 183
<b>Afterfreeze 1</b>	643, 644, 645
<b>Afterfreeze 2</b>	646, 647, 648

MSCCryosave OTS và MSCCryosave OTS<sup>TH</sup> là hai môi trường được thiết kế chuyên biệt để sản xuất các chế phẩm tế bào gốc trung mô (MSC) dạng off-the-shelf. Các sản phẩm được nghiên cứu và sản xuất theo tiêu chuẩn của nguyên liệu cho sinh phẩm y tế trên dây chuyền đạt ISO 13485 và được phân loại như thiết bị y tế nhóm B.

Các chế phẩm MSC sử dụng MSCCryosave OTS hoặc MSCCryosave OTS<sup>TH</sup> trong thành phần cần được rã đông và phối trộn đúng quy trình với hệ dung dịch Afterfreeze 1 và Afterfreeze 2 trước khi sử dụng. Quy trình này giúp kiểm soát sốc thẩm thấu, giảm tổn thương màng tế bào và tối ưu trạng thái sinh học của tế bào tại thời điểm ứng dụng trực tiếp trên người.



## MIỄN TRỪ TRÁCH NHIỆM

Công nghệ đông lạnh tế bào gốc trung mô dạng off-the-shelf là công nghệ độc quyền của Viện Tế bào gốc (Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh - VNUHCM-US). Việc sử dụng và thương mại hóa các sản phẩm tế bào gốc trung mô off-the-shelf được sản xuất bằng công nghệ này phải tuân thủ đầy đủ các quy định của cơ quan quản lý có thẩm quyền. Các dung dịch bao gồm MSCCryosave OTS, MSCCryosave OTS<sup>TH</sup>, Afterfreeze 1 và Afterfreeze 2 được sử dụng trong quy trình này như nguyên liệu đầu vào của quá trình sản xuất. Viện Tế bào gốc không chịu bất kỳ trách nhiệm nào liên quan đến việc sử dụng các sản phẩm này trên người.

# I. ĐÔNG LẠNH

Hướng dẫn các bước thao tác chuẩn để đông lạnh tế bào gốc trung mô (MSC) đạt mật độ siêu đặc, tạo ra các sản phẩm dạng off-the-shelf (sẵn sàng sử dụng) phục vụ ứng dụng lâm sàng, đảm bảo tiêu chuẩn an toàn và duy trì tỷ lệ sống sót cao của tế bào.

## 1.1 LỰA CHỌN MÔI TRƯỜNG THEO ĐỊNH HƯỚNG ỨNG DỤNG LÂM SÀNG CỦA LÔ SẢN PHẨM.

**A**

**MSCCryosave OTS (0% DMSO)**



Là dung dịch đông lạnh tiên tiến loại bỏ hoàn toàn độc tính của DMSO. Để thay thế, công thức sử dụng Glycerol và HSA chuẩn USP, mang lại hiệu quả bảo vệ tế bào sống sót cao sau rã đông.

- Lý tưởng để sản xuất chế phẩm: Tiêm da mặt (Meso/BAP) và Tiêm nội khớp.

**B**

**MSCCryosave OTS<sup>TH</sup> (1% DMSO)**



Chứa lượng vi lượng DMSO (1%). Khi được pha loãng theo đúng phác đồ, hàm lượng DMSO giảm xuống mức cực thấp (< 0,2%).

- Lý tưởng để sản xuất chế phẩm: Tiêm nội khớp và Truyền tĩnh mạch (IV).

## 1.2. Mật độ tế bào bắt buộc:

Cả hai dung dịch đều yêu cầu đông lạnh MSC ở mật độ siêu đặc:  $20 - 25 \cdot 10^6 / \text{mL}$ .



## 1.3. Lựa chọn vỏ chai (Vials) và Nhiệt độ bảo quản:



**ASEPTIC TECHNOLOGIES**

### Chai AT-closed vial (Aseptic Technologies)

- Có thể bảo quản ở tủ âm sâu  $-86^\circ\text{C}$  hoặc bình Nitơ lỏng  $-196^\circ\text{C}$ .



**Regenmedlab**  
Leading Regenerative Medicine Innovation

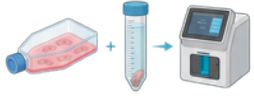
### Chai chịu nhiệt 2-cap glass vial (nhãn hàng Regenmedlab)

- Chỉ được phép bảo quản ở tủ âm sâu  $-86^\circ\text{C}$  (Tuyệt đối không lưu trữ trong bình nitơ lỏng  $-196^\circ\text{C}$ ).

## 2. QUY TRÌNH THỰC HIỆN ĐÔNG LẠNH

Lưu ý: Mọi thao tác phải được thực hiện vô trùng trong Tủ an toàn sinh học cấp II (BSC).

### Bước 1 Thu hoạch và tính toán



1. Thu hoạch tế bào gốc trung mô (MSC) từ hệ thống nuôi cấy.

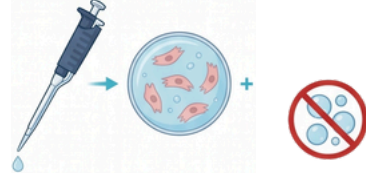


2. Ly tâm thu cặn tế bào (cell pellet) và đếm tổng số lượng tế bào sống (Viability > 90%).

3. Dựa trên tổng số tế bào và mật độ mục tiêu ( $20 - 25 \cdot 10^6 / \text{mL}$ ), tính toán chính xác thể tích môi trường MSCCryosave OTS hoặc OTS<sup>TH</sup> cần dùng.

### Bước 2 Phối trộn dung dịch (Resuspension)

1. Bơm từ từ môi trường MSCCryosave OTS /TH vào tuýp chứa cặn tế bào.



2. Dùng pipette trộn (resuspend) lên xuống **THẬT CHẬM VÀ NHẸ NHÀNG** để phân tán đều tế bào.

3. **CẢNH BÁO QUAN TRỌNG:** Không thao tác hút xả mạnh tay, không làm sủi bọt khí (Air bubbles). Lực ép vật lý mạnh qua đầu tip pipette hoặc bọt khí nổ vỡ có thể xé rách màng tế bào.

### Bước 3 Đóng chai (Aliquoting)

1. Phân liều hỗn dịch tế bào đã trộn đều vào các chai trữ đông đã được chọn (Chai AT-closed vial hoặc Chai 2-cap).

2. Thể tích đóng gói tiêu chuẩn: 1 mL / chai hay theo đóng gói phù hợp khác.

3. Niêm phong/đóng nắp chặt chẽ theo tiêu chuẩn của loại chai sử dụng.

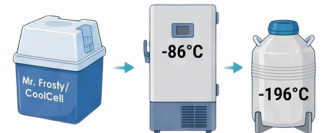


4. Ghi nhãn đầy đủ thông tin: Tên sản phẩm, Lô SX, Ngày SX...

### Bước 4 Hạ nhiệt độ và Lưu trữ

1. Đặt các chai tế bào vào hộp hạ nhiệt độ đẳng tốc (VD: Mr. Frosty, CoolCell).

2. Đưa hộp vào tủ âm sâu  $-86^\circ\text{C}$  trong ít nhất 24 giờ (để hạ nhiệt chuẩn  $-1^\circ\text{C}/\text{phút}$ ).



3. Sau 24 giờ, lấy chai ra khỏi hộp hạ nhiệt và chuyển vị trí lưu trữ dài hạn:

- Nếu dùng **Chai chịu nhiệt 2-cap glass vial**: Xếp vào hộp lưu trữ tại tủ  $-86^\circ\text{C}$ .
- Nếu dùng **Chai AT-closed vial**: Lưu tại tủ  $-86^\circ\text{C}$  hoặc chuyển sang bình Nitơ lỏng  $-196^\circ\text{C}$ .

*Trong trường hợp hạ lạnh bằng máy hạ lạnh theo chương trình, tiến hành đặt các chai chứa tế bào vào máy; cài đặt chế độ hạ lạnh  $-1^\circ\text{C}/\text{phút}$  từ RT đến  $-86^\circ\text{C}$ . Nếu dùng Chai AT-closed vial: Lưu tại tủ  $-86^\circ\text{C}$  hoặc chuyển sang bình Nitơ lỏng  $-196^\circ\text{C}$ .*

**Lưu ý: Vì bản thân các sản phẩm này không phải là sinh phẩm để sử dụng trực tiếp cho người/chưa phải thuốc chữa bệnh, bộ phận Sản xuất bắt buộc phải đính kèm tài liệu hoặc ghi nhãn xuất lô với nội dung khuyến cáo.**



"Sản phẩm tế bào gốc khi sử dụng **BẮT BUỘC** phải được rửa đông, phối trộn hoàn chỉnh và pha loãng qua 2 bước bằng hệ dung dịch Afterfreeze 1 (hoặc PRP trung tính) và Afterfreeze 2 qua van 3 chạc trước khi ứng dụng đánh giá lâm sàng."

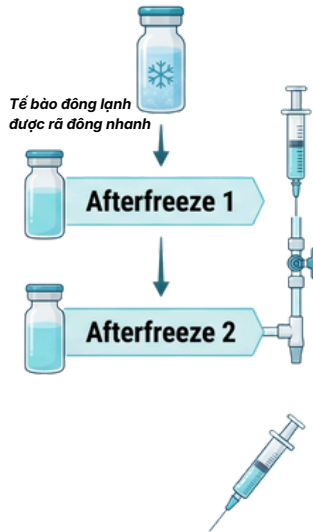


## II. RÃ ĐÔNG

Khi sử dụng trong điều trị trực tiếp, huyền phù tế bào **BẮT BUỘC** phải được pha loãng 2 bước với dung dịch Afterfreeze 1 và Afterfreeze 2.

### Bước 1 Dung dịch Afterfreeze 1 (Bước đệm sinh lý)

Giúp tế bào thích nghi với điều kiện sinh lý của cơ thể. Riêng đối với chỉ định Tiêm nội khớp, dung dịch này có thể thay thế bằng Huyết tương giàu tiểu cầu (PRP).



### Bước 2 Dung dịch Afterfreeze 2 (Bước pha loãng)

Được thiết kế đặc biệt để đưa dung dịch bảo quản đưa về mức sinh lý. Sản phẩm này **KHÔNG THỂ** thay thế. Để đảm bảo bệnh nhân có cảm giác êm ái, không đau buốt, sưng tấy hay nặng nề sau tiêm, việc sử dụng Afterfreeze 2 là bắt buộc và phải dùng đúng tỷ lệ.



## III: TỶ LỆ PHỐI TRỘN & ỨNG DỤNG LÂM SÀNG

**Nguyên tắc:** Sản phẩm chứa tế bào MSC đông lạnh trong hệ MSCCryosave OTS/MSCCryosave OTS<sup>TH</sup> phải được rã đông nhanh → Hút vào xi-lanh vô trùng → Trộn với Afterfreeze 1 (hoặc PRP) → Trộn tiếp với Afterfreeze 2 qua hệ thống Van 3 chạc.

Ứng dụng	Tiêm khớp (Khớp gối, Khớp vai, Khớp háng)		Tiêm da mặt		Truyền tĩnh mạch (IV)	
	Cách trộn 1 (Ưu tiên êm ái)	Cách trộn 2 (Rút gọn thể tích)	Cách trộn 1 (Ưu tiên)	Cách trộn 2	Phác đồ 1 (Tiêm tĩnh mạch chậm - Slow IV Push)	Phác đồ 2 (Truyền nhỏ giọt - IV Drip)
Sản phẩm chứa MSCCryosave OTS / OTS <sup>TH</sup>	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Afterfreeze 1	2 mL	1 mL	1 mL	2 mL	1 mL	2 mL
Afterfreeze 2	3 mL	3 mL	4 mL	4 mL	4 mL	0 mL (Không sử dụng)
Tổng thể tích sau khi trộn	6 mL	5 mL	6 mL	7 mL	6 mL	3 mL
Cách thao tác đưa vào cơ thể					Tiêm chậm hỗn dịch trực tiếp vào tĩnh mạch trong 3-5 phút	Bơm 3 mL hỗn dịch vào chai nước muối sinh lý 0.9 (100mL) và truyền trong 15-30 phút.

### LƯU Ý QUAN TRỌNG:

- Nếu dùng PRP thay thế Afterfreeze 1, **BẮT BUỘC** dùng loại PRP có pH trung tính.
- TUYỆT ĐỐI KHÔNG** dùng PRP có tính acid để thay thế Afterfreeze 1 khi tiêm da mặt. Các hóa chất chống đông trong PRP sẽ gây buốt rát da dữ dội cho khách hàng; nếu cần thiết sử dụng thì cần sử dụng PRP trung tính.

# IV. QUY TRÌNH THAO TÁC RÃ ĐÔNG VÀ PHỐI TRỘN BẰNG VAN 3 CHẠC

## 1. Điều kiện lưu trữ các loại dung dịch

- Chế phẩm MSC: Trữ ở tủ âm sâu  $-86^{\circ}\text{C}$  hoặc bình nitơ lỏng  $-196^{\circ}\text{C}$ .
- Dung dịch Afterfreeze 1 & 2: Trữ ở ngăn mát tủ lạnh ( $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$ ).

## 2. Quy trình rã đông và làm ấm (CHỐNG SỐC NHIỆT)

STT	Tên dung dịch	Cách chuẩn bị
1	Dung dịch Afterfreeze 1 & 2	BẮT BUỘC lấy ra khỏi tủ lạnh, để ở Nhiệt độ phòng (RT) ÍT NHẤT 15 - 30 PHÚT TRƯỚC KHI rã đông tế bào. (Tuyệt đối không pha trộn khi dung dịch còn lạnh buốt gây sốc vỡ
2	Sản phẩm MSC (chứa MSCCryosave OTS / OTS TH)	Rã đông nhanh bằng cách đặt vào Bể ổn nhiệt (Water bath) $37^{\circ}\text{C}$ trong 2-3 phút cho đến khi vừa tan đá hoàn toàn.

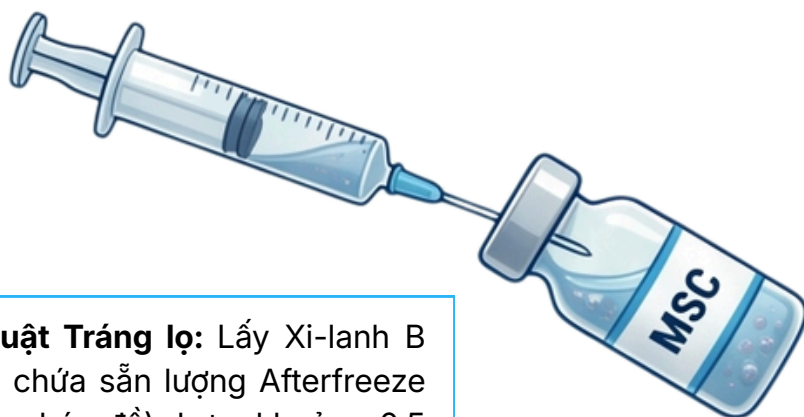
## 3. Kỹ thuật rút tế bào và Tráng lọ

Do môi trường đông lạnh cực kỳ đặc quánh và chứa mật độ tế bào cao, Bác sĩ/Điều dưỡng bắt buộc thao tác như sau để tránh xé rách tế bào và tránh hao hụt:

**Dùng kim to:** Gắn mũi kim lấy thuốc cỡ lớn (18G hoặc 21G) vào Xi-lanh A. Đâm xuyên nắp lọ MSC, nghiêng lọ và kéo pit-tông THẬT CHẬM để hút cạn 1 mL tế bào ra. Tháo bỏ mũi kim. (Tuyệt đối không dùng kim tiêm nhỏ để hút).

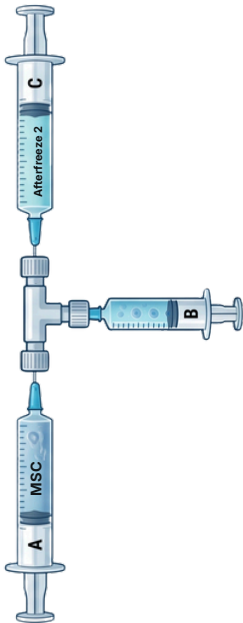
**Kỹ thuật Tráng lọ:** Lấy Xi-lanh B (đang chứa sẵn lượng Afterfreeze 1 theo phác đồ), bơm khoảng 0.5 mL ngược lại vào vỏ lọ MSC vừa rút. Lắc xoay tròn nhẹ nhàng để rửa trôi các tế bào bám trên thành thủy tinh.

Dùng chính Xi-lanh B hút ngược phần dịch tráng đó vào lại trong ống. Tháo bỏ mũi kim.



## 4. Quy trình trộn bằng Van 3 chạc

### Ví dụ minh họa cho Phác đồ Tiêm khớp 6mL



STT	Tên dung dịch	Tên Syringe	Chú thích (Gợi ý dùng 3 loại thể tích)
1	Sản phẩm MSC (1 mL)	<b>Xi-lanh A</b>	Dùng loại to nhất: <b>10 cc</b> (Vi cuối cùng sẽ chứa tổng 6mL)
2	Afterfreeze 1 (2 mL - gồm cả dịch trắng)	<b>Xi-lanh B</b>	Dùng loại: <b>3 cc</b>
3	Afterfreeze 2 (3 mL)	<b>Xi-lanh C</b>	Dùng loại: <b>5 cc</b>

### Bước 1 Lắp hệ thống & Trộn Xi-lanh B vào Xi-lanh A

1. Gắn Xi-lanh A vào 1 cổng, gắn Xi-lanh B vào cổng còn lại. Cổng còn lại vẫn giữ chặn nắp đậy vô trùng.
2. Vận núm để thông cổng giữa 2 xi-lanh A và B.

#### THAO TÁC BƠM:

- Dùng ngón tay cái đẩy pit-tông từ Xi-lanh B sang Xi-lanh A **THẬT CHẬM**. (Lưu ý: Luôn đẩy từ B sang A, không làm ngược lại).
- Sau đó đẩy qua đẩy lại nhẹ nhàng giữa 2 xi-lanh khoảng 4 - 5 nhịp để đánh tan các cụm tế bào vón cục và hòa đều dịch giữa Xi-lanh A và Xi-lanh B.
- Đồn tất cả 3 mL hỗn hợp vừa trộn về nằm gọn trong Xi-lanh A.
- Buông tay, đặt hệ thống nằm im trên mâm vô trùng TRONG 30 GIẤY.

### Bước 2 Khóa an toàn & Đổ Xi-lanh

1. Vận núm khoá cổng B. (Lúc này 3 mL hỗn dịch trong Xi-lanh A đã được khóa chốt an toàn).
2. Tháo bỏ Xi-lanh B (đã rỗng) ra khỏi Van và vứt đi.
3. Lắp Xi-lanh C (chứa Afterfreeze 2) vào thế chỗ tại cổng của Xi-lanh B.

### Bước 3 Trộn hỗn hợp với dung dịch Afterfreeze 2

1. Vận núm trở lại hướng giống Bước 1 để mở thông Xi-lanh A và Xi-lanh C.
2. Tiếp tục luân chuyển thuốc qua lại. (Lưu ý: Thao tác bơm nhịp phải **CỰC CHẬM** để tránh tế bào bị sốc).
3. Bơm qua lại 4 - 5 nhịp cho hỗn dịch hòa quyện hoàn toàn.
4. Đồn toàn bộ 6 mL hỗn dịch hoàn hảo cuối cùng về lại Xi-lanh A.

### Bước 4 Rút thuốc và Tiêm

1. Xoay khóa OFF hướng về Xi-lanh A để khóa chặt nó lại.
2. Tháo Xi-lanh A ra khỏi Van 3 chạc.
3. Gắn mũi kim tiêm (kim nhỏ 23G hoặc 25G) vào Xi-lanh A.
4. Tiến hành tiêm nội khớp/da mặt ngay cho bệnh nhân.

## V. CÁC LƯU Ý QUAN TRỌNG TRONG THAO TÁC



### **CẤM LỘT BỌT KHÍ**

Bọt khí đi qua khe hẹp của van có thể tạo lực tác động cơ học lên tế bào, làm giảm độ ổn định và viability của hỗn dịch MSC.

### **KHÔNG ĐẨY PIT-TÔNG QUÁ NHANH**

Thao tác bơm cần thực hiện chậm, đều và liên tục để hạn chế stress cơ học và giảm tổn thương màng tế bào trong quá trình phối trộn.

### **KHÔNG ÉP SÁT ĐÁY XI-LANH**

Không đẩy pit-tông ép hoàn toàn về đáy xi-lanh. Nên chừa lại một lượng nhỏ dung dịch (~0,1 mL) nhằm hạn chế lực nén cơ học tác động lên tế bào.



**Website:**  
biomedmart.com.vn  
biomedmart.org

**Email:** contact@sci.edu.vn  
sales@sci.edu.vn  
kinhdoanh@sci.edu.vn

Quét mã QR  
Đặt hàng ngay!



**Liên hệ đặt hàng**