



HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG MSCCult Spheroid

Môi trường chuyên biệt
tạo Spheroid từ MSC sản
lượng lớn sử dụng flask
Elplasia 12k cho nghiên
cứu và ứng dụng



1. GIỚI THIỆU

MSCCult Spheroid

Sự chuyển dịch từ mô hình nuôi cấy đơn lớp (2D) sang không gian ba chiều (3D) đang mở ra những tiềm năng đột phá trong y học tái tạo, nhưng đồng thời cũng đặt ra thách thức lớn về việc cung cấp vi môi trường dinh dưỡng đồng nhất cho các cấu trúc đa bào. MSCCult Spheroid được phát triển chuyên biệt để giải quyết bài toán này, đóng vai trò là giải pháp môi trường nuôi cấy tiên tiến dành riêng cho quá trình tạo lập và duy trì Tế bào gốc trung mô (MSC) dưới dạng khối cầu. Được tinh chỉnh với hệ đệm và tỷ lệ vi chất đặc thù, MSCCult Spheroid hỗ trợ mạnh mẽ sự tương tác tế bào - tế bào (cell-cell) và tế bào - chất nền (cell-ECM). Môi trường này không chỉ thúc đẩy quá trình tự lắp ráp nhanh chóng mà còn bảo vệ tính toàn vẹn của cấu trúc Spheroid trong suốt chu kỳ nuôi cấy dài ngày. Quan trọng hơn, MSCCult Spheroid là môi trường serum free, xeno free thích hợp cho mọi ứng dụng lâm sàng. Kết hợp với Elplasia 12k (Corning), MSCCult Spheroid giúp tạo một lượng lớn MSC Spheroid cho các ứng dụng.

2. ỨNG DỤNG

Môi trường MSCCult Spheroid được định vị là công cụ thiết yếu để khởi tạo và duy trì MSC Spheroid chất lượng cao, phục vụ đắc lực cho cả hai mảng: nghiên cứu chuyên sâu và ứng dụng y sinh tinh tiến.

3. CHUẨN BỊ TRƯỚC KHI NUÔI CẤY

Tế bào	Tế bào gốc trung mô (MSCs) đang ở pha tăng trưởng mạnh (Log phase), lý tưởng nhất là ở số lần cấy chuyển (passage) thấp (P3 - P5).
Môi trường	MSCCult Spheroid.
Vật tư tiêu hao	Flask Elplasia 12K Flask (Corning)
Hóa chất khác	1. PBS (không chứa Canxi/Magie); 2. Deattachment (hoặc enzyme tách tế bào tương đương); 3. Thuốc nhuộm Trypan Blue để đếm tế bào sống.

4. QUY TRÌNH THAO TÁC CHI TIẾT

1 Bước 1: Thu hoạch tế bào MSC (từ đĩa/bình nuôi 2D)

1. Hút bỏ môi trường cũ trong bình nuôi cấy 2D.
2. Rửa nhẹ nhàng màng tế bào bằng dung dịch PBS.
3. Cho dung dịch Deattachment vào ủ ở 37°C trong khoảng 3-5 phút cho đến khi tế bào co tròn và bong ra khỏi đáy bình.
4. Thêm môi trường có chứa huyết thanh để trung hòa hoạt tính của Trypsin.

2 Bước 2: Đếm và kiểm tra tỷ lệ sống

1. Hút hỗn dịch tế bào ra ống falcon và ly tâm (thường ở mức 300-400g trong 5 phút).
2. Loại bỏ dịch nổi, hòa tan cặn tế bào (pellet) bằng một lượng môi trường mới.
3. Lấy một lượng nhỏ để đếm tế bào bằng Trypan Blue. Tỷ lệ tế bào sống (viability) phải đạt trên 90% để đảm bảo Spheroid hình thành tốt.

5. NUÔI CẤY QUY MÔ LỚN TRÊN FLASK ELPLASIA 12K

1 Làm ướt

Đặt bình Elplasia ở vị trí thẳng đứng (Upright position). Bơm 5 đến 10 mL dung dịch Ethanol 35% - 70% (được lọc vô trùng 0.2 μ m) vào đáy bình.



2 Dàn đều

Nhẹ nhàng hạ bình xuống vị trí ủ (Incubation position - nằm ngang) để cồn tràn qua toàn bộ bề mặt vi giếng. Các vi giếng ngấm dung dịch sẽ trở nên trong suốt; nếu quan sát thấy các vùng đục mờ, chứng tỏ bọt khí vẫn còn kẹt lại. Bạn có thể gõ nhẹ hoặc lắc mượt bình để đẩy bọt khí ra.



3 Rửa cồn

Dựng đứng bình lại và hút kiệt dung dịch cồn. Thêm 15 mL nước cất dùng trong nuôi cấy tế bào, hạ bình nằm ngang để rửa, sau đó dựng đứng để hút bỏ.



4 Cân bằng

Lặp lại thao tác rửa thêm 2 lần nữa bằng dung dịch 1X PBS (không chứa Canxi/Magie) để đảm bảo loại bỏ hoàn toàn các vết cồn.



6. TÍNH TOÁN VÀ GIEO MSC (SEEDING)

Mỗi bình Elplasia 12K chứa chính xác khoảng 12.160 vi giếng. Để thu được MSC Spheroid đạt kích thước lý tưởng (khoảng 200 μm , tránh hoại tử lõi), ta sẽ thiết lập mật độ 1.000 tế bào/vi giếng.



Tính toán lượng MSC



1.000 tế bào/giếng

X



12.160 giếng

=12.160.000 tế bào



Tiến hành gieo hạt

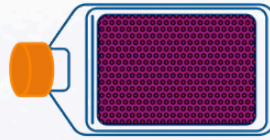
1. Chuẩn bị huyền phù chứa 12,16 triệu MSC sống trong 25 đến 30 mL môi trường MSCCult Spheroid. Khuyến cáo nên lọc huyền phù qua màng lọc tế bào 70 μm để phá vỡ các đám tế bào vón cục, đảm bảo hỗn dịch đạt trạng thái đơn bào.
2. Đặt bình thẳng đứng và bơm toàn bộ hỗn dịch MSC vào bình.
3. Chuyển bình vào tủ ấm CO_2 , từ từ hạ bình xuống vị trí nằm ngang. Lắc nhẹ để tế bào phân bố đều; mực chất lỏng sẽ che phủ hoàn toàn bề mặt vi giếng và nằm ngay dưới cổ bình.
4. Lưu ý: Để yên bình tuyệt đối trong ít nhất 24 giờ để các MSC bắt đầu tự lắp ráp và kết tụ. Một khi đã nằm ngang, tuyệt đối không dựng đứng bình lại trong suốt quá trình nuôi cấy vì sẽ làm bật các khối Spheroid non ra khỏi giếng.

7. THAO TÁC THAY MÔI TRƯỜNG (MEDIUM EXCHANGE)

Hệ thống vi giếng được thiết kế đủ sâu để giữ Spheroid lại khi thao tác, kết hợp với bộ phận chuyển hướng chất lỏng (liquid diverter) ở cổ bình giúp giảm thiểu dòng chảy xoáy. Mức thể tích nuôi cấy lý tưởng là 25 mL đến 50 mL.

1

Lấy bình ra khỏi tủ ấm và nới lỏng nắp, giữ nguyên tư thế nằm ngang.



2

Kê đuôi bình lên một vật kê (như nắp ống ly tâm 50mL, pipet, hoặc khay bảo vệ màu cam đi kèm) để tạo một góc nghiêng nhỏ từ 3 đến 4 độ. Góc nghiêng này đẩy chất lỏng chảy về phía rãnh chuyển hướng. (Không nghiêng quá 10 độ để tránh ứt màng lọc khí ở nắp).



3

Đặt đầu tip của pipet tỳ sát vào vách của rãnh chuyển hướng và tiến hành hút môi trường cũ ra.



4

Để châm môi trường mới, tiếp tục đặt tip pipet tỳ vào rãnh chuyển hướng và bơm thật chậm rãi. Bỏ vật kê đuôi bình, vặn chặt nắp và đưa trở lại tủ ấm.



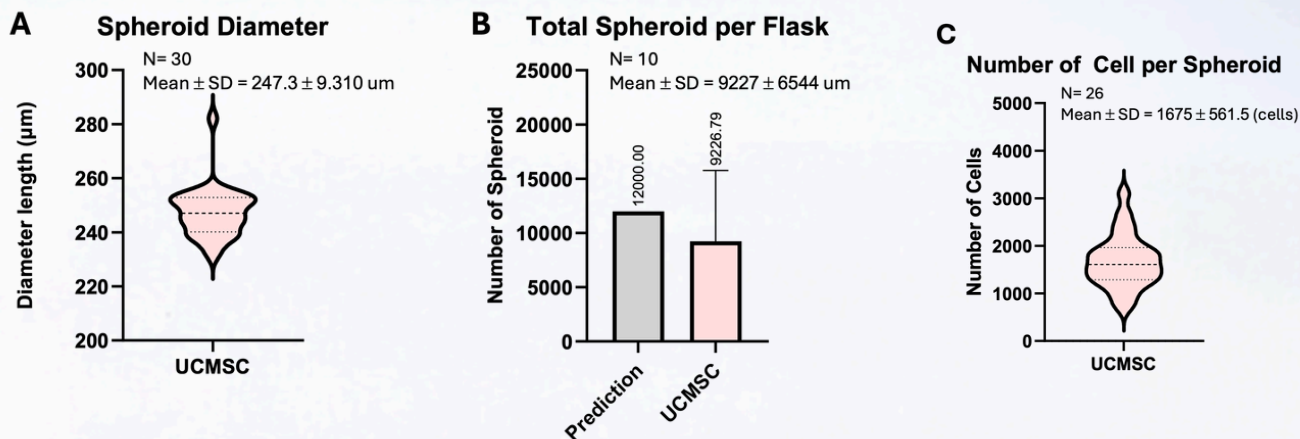
8. THU HOẠCH SPHEROID (HARVEST)

1. Hút bỏ toàn bộ môi trường cũ như hướng dẫn ở phần thay môi trường.
2. Bơm ít nhất 15 mL dung dịch 1X PBS (hoặc môi trường mới) vào bình.
3. Nghiêng và gõ nhẹ tay vào thành bình ("tip and tap") để đánh bật các Spheroid văng ra khỏi vi giếng.
4. Lúc này, hãy dựng đứng bình (Upright position). Thao tác này giúp Spheroid rơi tự do xuống tụ lại ở góc đáy bình và không bị lắng ngược trở lại vào trong các vi giếng.
5. Thực hiện thao tác lắc tráng nhẹ theo chuyển động cần gạt nước (windshield wiper) để gom toàn bộ 12.000 khối Spheroid và dùng pipet hút ra ống ly tâm. Bạn có thể lặp lại bước tráng bình bằng PBS thêm một lần nữa để thu hồi tối đa.

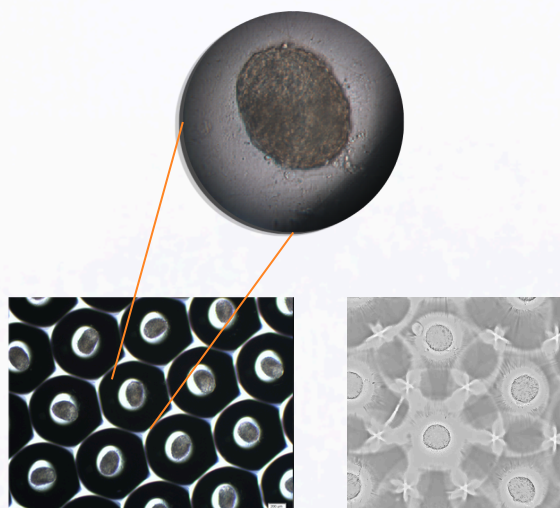
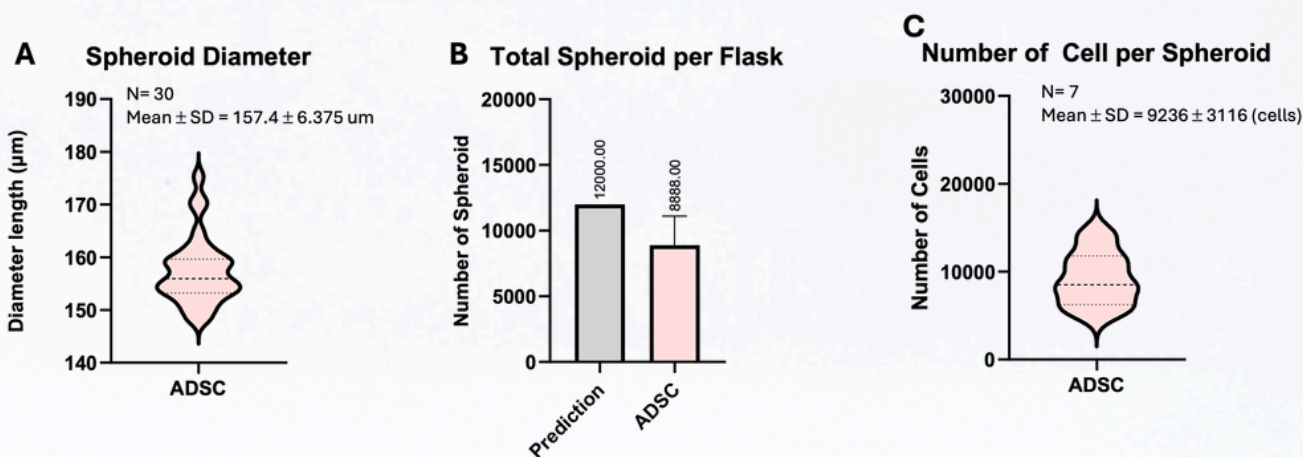


9. HIỆU QUẢ TẠO MSCSPHEROID BẰNG MÔI TRƯỜNG MSCCULT SPHEROID

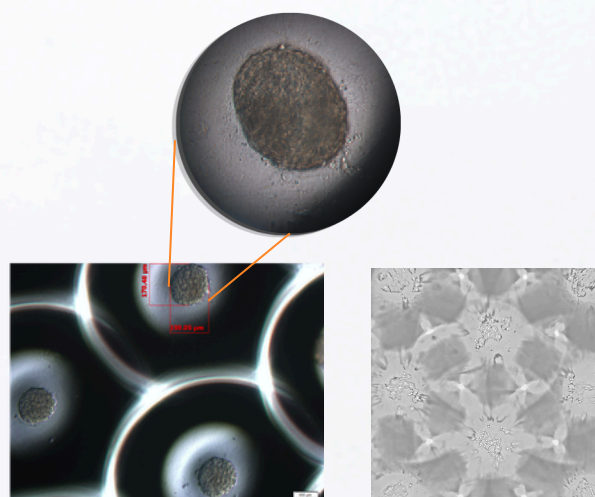
UCMSC



ADSC



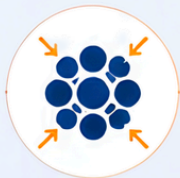
UCMSC
SPHEROID



ADSC
SPHEROID

10. NHỮNG ƯU ĐIỂM VƯỢT TRỘI CỦA

MSCCult Spheroid



Thúc đẩy cấu trúc đặc chắc (Compaction)

Cung cấp các yếu tố kích hoạt sự biểu hiện của các phân tử bám dính (như E-cadherin và N-cadherin), giúp khối cầu nhanh chóng co rút, tạo hình dạng đồng đều và hỗ trợ kiểm soát đường kính ở mức lý tưởng (150 μm - 250 μm), từ đó hạn chế tối đa hiện tượng lõi hoại tử (necrotic core).



Bảo tồn đặc tính gốc (Stemness)

Vì môi trường được thiết kế để đưa MSC vào trạng thái nghỉ sinh lý (quiescence), ngăn chặn sự lão hóa sớm và sự biệt hóa tự phát, đồng thời duy trì khả năng tự làm mới và tiềm năng biệt hóa đa dòng.



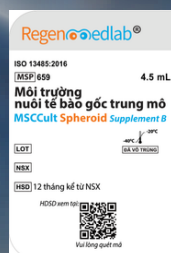
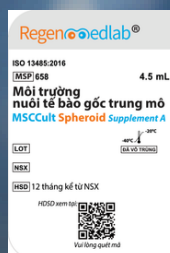
Tối ưu hóa năng lực chế tiết

Nguồn dinh dưỡng đặc chế giúp khối MSC gia tăng đáng kể hiệu suất tổng hợp và chế tiết các yếu tố cận tiết (paracrine factors), cytokine điều hòa miễn dịch và exosome sinh học so với nuôi cấy 2D thông thường.



Định hướng ứng dụng tinh tiến

(Áp dụng nếu thành phần là Serum-free/Xeno-free) Được xây dựng hướng tới các tiêu chuẩn sản xuất cao, hỗ trợ quá trình chuyển giao liên mạch từ nghiên cứu cơ bản sang các quy trình sản xuất sản phẩm trị liệu y học tiên tiến (ATMPs).



Quét mã QR
Đặt hàng ngay!

Website:
biomedmart.com.vn
biomedmart.org

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