

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG (IFU)
Dung dịch rã đông tế bào chuyên dụng AFTERFREEZE
(Dành cho dòng sản phẩm tế bào gốc trung mô đông lạnh trong dung dịch MSCCryosave OTS
hoặc MSCCryosave OTS TH – Thể tích 1 mL)

I. THÔNG TIN CHUNG, MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG & NGUYÊN LÝ

- **Mục đích:** Rã đông, hạ áp suất thẩm thấu và chuyển tế bào gốc MSC về trạng thái đẳng trương mà không cần ly tâm rửa.
- **Thành phần:** NaCl, Human Serum Albumin
- **Nguyên lý 3 pha:** Phối trộn 1 mL MSCCryosave OTS (hay MSCCryosave OTS TH) với 4 mL Afterfreeze theo 3 pha nghỉ:
 - **Pha 1:** 1 mL Tế bào + 1 mL Afterfreeze -> 2 mL -> **Nghỉ 1–2 phút.**
 - **Pha 2:** + 1 mL Afterfreeze -> 3 mL -> **Nghỉ 1 phút.**
 - **Pha 3:** + 2 mL Afterfreeze -> 5 mL -> **Nghỉ 1 phút.**

II. QUY TRÌNH THAO TÁC (3 TRƯỜNG HỢP)

Dùng bơm tiêm vô trùng hút sẵn 4 mL dung dịch Afterfreeze.

TRƯỜNG HỢP 1: Tế bào đông lạnh chứa trong Cryovial (Ống Cryo nắp vặn 1,8–2,0 mL)

(Lưu ý: Vì thể tích Cryovial nhỏ, cần dùng 1 ống Falcon 15 mL vô trùng hoặc xilanh 10 mL làm buồng trộn).

1. **Rã đông:** Làm tan đá ống Cryovial MSCCryosave OTS (1 mL) trong bể ấm 37°C (hoặc lòng bàn tay) cho đến khi vừa tan hết tinh thể đá.
2. **Pha 1:** Dùng xilanh/pipette hút 1 mL dịch tế bào từ Cryovial chuyển sang ống vô trùng 15 mL (hoặc xilanh 10 mL). Nhỏ từ từ 1 mL Afterfreeze (từng giọt trong 30 giây), xoay nhẹ ống/xilanh. **Để yên 1–2 phút.**
3. **Pha 2:** Bơm tiếp 1 mL Afterfreeze vào. Xoay lắc nhẹ. **Để yên 1 phút.**
4. **Pha 3:** Bơm 2 mL Afterfreeze còn lại vào. Xoay lắc nhẹ. **Để yên 1 phút.**
5. **Hoàn tất:** Hút toàn bộ 5 mL dung dịch tế bào cho các mục đích tiếp theo.

TRƯỜNG HỢP 2: Tế bào đông lạnh chứa trong Chai/Lọ nắp cao su đâm xuyên (Rubber Stopper Vial 5–10 mL)

1. **Rã đông:** Rã đông chai MSCCryosave OTS (1 mL) cho đến khi vừa tan đá hoàn toàn. Sát trùng nắp cao su bằng cồn 70°.
2. **Pha 1:** Dùng xilanh chứa 4 mL Afterfreeze đâm xuyên qua nắp cao su, bơm từ từ 1 mL Afterfreeze vào lọ tế bào. Lắc xoay tròn nhẹ chai. **Để yên 1–2 phút.**
3. **Pha 2:** Bơm tiếp 1 mL Afterfreeze qua nắp cao su. Lắc xoay nhẹ. **Để yên 1 phút.**
4. **Pha 3:** Bơm 2 mL Afterfreeze còn lại vào lọ. Lắc xoay nhẹ. **Để yên 1 phút.**

5. **Hoàn tất:** Rút ngược lọ, dùng xilanh hút toàn bộ 5 mL dung dịch tế bào để thực hiện các mục đích tiếp theo.

TRƯỜNG HỢP 3: Thao tác hệ thống kín dùng Van 3 chạc (3-Way Stopcock)

- **Chuẩn bị kết nối:**
 - Cổng 1 van 3 chạc: Kết nối Xilanh A (chứa 1 mL tế bào MSCCryosave OTS vừa rã đông).
 - Cổng 2 van 3 chạc: Kết nối Xilanh B (chứa 4 mL Afterfreeze).
 - Cổng 3 van 3 chạc: Kết nối Xilanh C (Xilanh rỗng).
- 1. **Pha 1:** Mở van kết nối Xilanh B và Xilanh A. Bơm 1 mL Afterfreeze từ Xilanh B sang Xilanh A.
- 2. **Ngắt kết nối Xilanh A và B;** chuyển kết nối Xilanh A và C. Trộn nhẹ bằng cách đẩy đi lại 1–2 lần, **để yên 1–2 phút.**
- 3. **Pha 2:** Mở van kết nối Xilanh A và B, bơm tiếp 1 mL Afterfreeze từ Xilanh B sang Xilanh A.
- 4. **Ngắt kết nối Xilanh A và B;** chuyển kết nối Xilanh A và C. Trộn nhẹ, **để yên 1 phút.**
- 5. **Pha 3:** Mở van kết nối Xilanh A và B, bơm 2 mL Afterfreeze còn lại từ Xilanh B sang Xilanh A (lúc này Xilanh A có đủ 5 mL). Trộn nhẹ (đẩy qua lại Xilanh A và B). Khóa van, **để yên 1 phút.**
- 6. **Hoàn tất:** Xoay van 3 chạc mở thông Cổng Xilanh A sang Xilanh C (Xilanh tiêm). Bơm toàn bộ 5 mL tế bào sang Xilanh C.

III. LƯU Ý QUAN TRỌNG KHI SỬ DỤNG

1. **Không bỏ qua các khoảng nghỉ:** Thời gian nghỉ 1–2 phút giữa các pha là bắt buộc để màng tế bào kịp điều hòa, tránh hiện tượng vỡ màng do nước vào quá nhanh.
2. **Không lắc mạnh:** Thao tác trộn chỉ thực hiện bằng cách xoay nhẹ ống hoặc đảo xilanh êm dịu, tránh tạo bọt khí làm hư hại tế bào.