Regenmedlab
Leading Regenerative Medicine Innovation

NKCult Kit Manual

CÔNG NGHỆ PHÂN LẬP & TĂNG SINH TẾ BÀO DIỆT TỰ NHIÊN (NK CELLS) -

PHIÊN BẢN V5.3

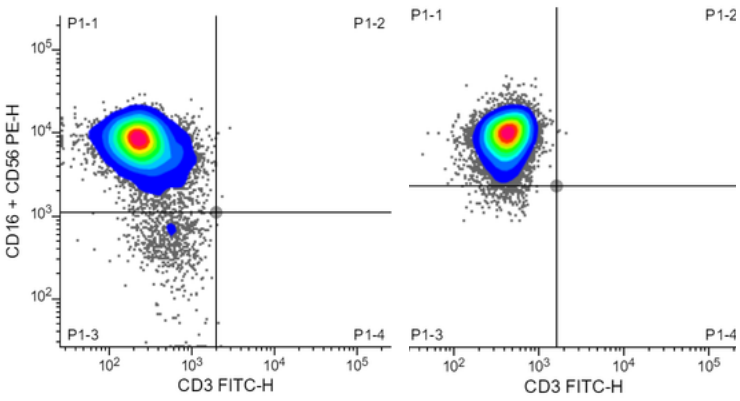
NỘI DUNG CHÍNH

DANH MỤC THIẾT BỊ, VẬT TƯ & HÓA CHẤT

CHUẨN BỊ MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY

QUY TRÌNH THỰC HÀNH CHUẨN

KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM



Nghiên cứu, Sản xuất & Phân phối bởi: Viện Tế bào gốc, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM

LỜI NÓI ĐẦU

Chào mừng các đồng nghiệp và kỹ thuật viên đến với quy trình công nghệ NKCult Kit V5.

NKCult Kit V5 là bộ sản phẩm phục vụ phân lập và tăng sinh tế bào diệt tự nhiên (NK cells) sử dụng 20 mL máu ngoại vi, được phát triển cho các ứng dụng trong lĩnh vực liệu pháp tế bào tiên tiến.

Trong y học tái tạo, tế bào không chỉ là vật liệu sinh học mà trực tiếp đóng vai trò như một tác nhân điều trị. Vì vậy, chất lượng của quy trình không chỉ phụ thuộc vào hệ thống công cụ, mà được quyết định bởi độ chính xác và nhất quán trong từng thao tác.

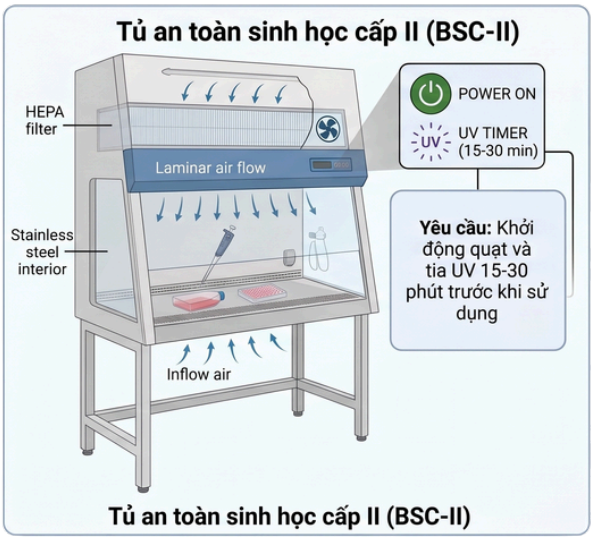
Tế bào NK là một hệ đặc biệt nhạy cảm, nhất là với lực cắt cơ học (shear stress) và các biến động nhiệt độ. Điều này đòi hỏi thao tác phải luôn ổn định, có kiểm soát và có chủ đích rõ ràng. Tài liệu này không chỉ hướng dẫn cách thực hiện, mà còn cung cấp cơ sở để bạn hiểu vì sao từng bước cần được tuân thủ nghiêm ngặt.

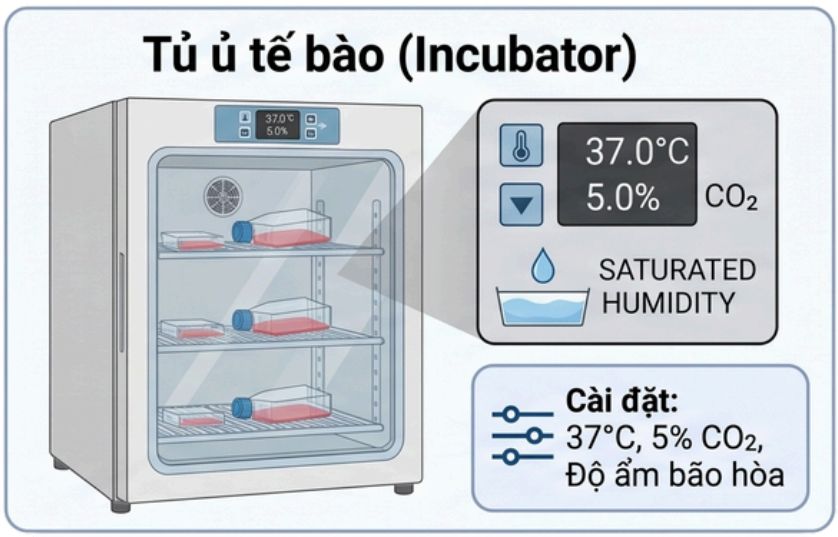
Trong suốt quá trình thao tác, cần đặc biệt lưu ý các **ĐIỂM KIỂM SOÁT TỚI HẠN – CCP** — đây là những điểm có ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng đầu ra và không có dư địa cho sai lệch.

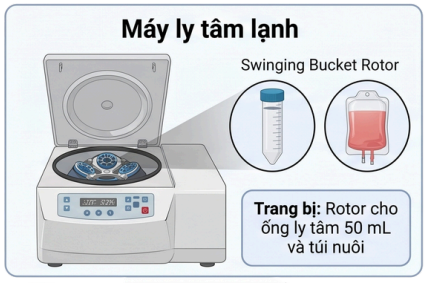
Hãy tiếp cận quy trình với sự tập trung và tôn trọng đối với hệ sinh học mà bạn đang làm việc cùng. Bởi mỗi mẻ tế bào bạn nuôi dưỡng hôm nay chính là vũ khí chiến đấu với ung thư của bệnh nhân ngày mai.

PHẦN I:
DANH MỤC THIẾT BỊ, VẬT TƯ & HÓA CHẤT

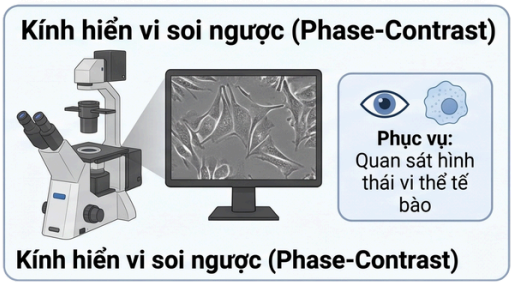
I.1. Danh mục thiết bị chính











Yêu cầu hiệu chuẩn GLP/GMP

I.2. Thành phần Bộ Kit NKCult





Hóa chất / Môi trường

STT	Chủng loại	Quy cách	Bảo quản	Ghi chú
1	NKCult Basal	1 chai (540 mL)	2 - 8 °C	Cung cấp dưỡng chất cơ bản (vô huyết thanh)
2	NKCult Coating Reagent	1 ống (0,5 mL)	-20 °C	Phân tử protein phủ bề mặt để kích hoạt
3	NKCult D0-3 Supplement	1 ống (2,0 mL)	-20 °C	Vi chất kích hoạt
4	NKCult D4-21 Supplement	5 chai (8,0 mL/chai)	-20 °C	Vi chất thúc đẩy tăng sinh
5	Separation Supplement	1 mL/vial	2 - 8 °C	

Dụng cụ chuyên dụng

STT	Chủng loại	Quy cách	Bảo quản	Ghi chú
1	T-75 Flask	1 cái	Nhiệt độ phòng	Non-treated flask
2	NKCult Bag 500 mL	1 cái	Nhiệt độ phòng	Dùng cho giai đoạn Scale-up
3	MNC Collection Tube	3 ống (mỗi ống 8 mL)	Nhiệt độ phòng	Phục vụ phân lập tế bào đơn nhân
4	T-75 Flask	1 cái		KHÔNG BAO GỒM

(Lưu ý: Phòng lab cần tự chuẩn bị dung dịch đệm PBS vô trùng - KHÔNG chứa Ca, Mg).
Khách hàng có thể mua riêng NKCult Basal, NKCult D4-21 Supplement và NKCult Bag 1000 mL để nuôi cấy tăng sinh đến 21 hay 28 ngày nhằm thu lượng lớn hơn tế bào NK.

PHẦN II: CHUẨN BỊ MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY

Nguyên tắc ATMP:

- Các yếu tố tăng trưởng (Supplement) là các protein tái tổ hợp rất tinh xảo và dễ bị thoái hóa.
- Nguyên tắc tối quan trọng: Pha lượng vừa đủ dùng, dùng đến đâu pha đến đó.



1. Dung dịch kích hoạt bề mặt (Coating Cocktail):

- Trộn 0,5 mL NKCult Coating Reagent với 15 mL PBS (Không Ca, Mg). Pha ngay trước khi tiến hành phủ bình.



2. Môi trường nuôi sơ cấp (NKCult D0-3)

- Hút 18 mL NKCult Basal vào ống ly tâm 50 mL vô trùng.
- Bổ sung 2,0 mL NKCult D0-3 Supplement (đã rã đông tự nhiên). Trộn đều nhẹ nhàng.



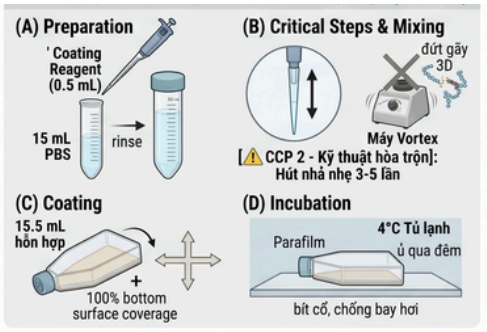
3. Môi trường tăng sinh (NKCult D4-21):

- **Trích xuất Basal**: Hút 22 mL NKCult Basal ra một ống vô trùng riêng để làm dịch rửa tế bào cho ngày D3. Phần Basal còn lại (~500 mL) dùng để pha môi trường nuôi dài hạn.
- **Tỷ lệ chuẩn**: 92 mL Basal + 1 vial (8.0 mL) Supplement = 100 mL môi trường D4-21 hoàn chỉnh. (Nếu pha ít, duy trì tỷ lệ: 46 mL Basal + 4.0 mL Supplement).

CCP 1 - Hạn sử dụng sau pha: Môi trường D4-21 sau khi pha chỉ giữ được hoạt tính tối đa trong **7-14 ngày** ở tủ lạnh. Phần Basal dư BẮT BUỘC cất lại ngay vào 2 – 8°C.

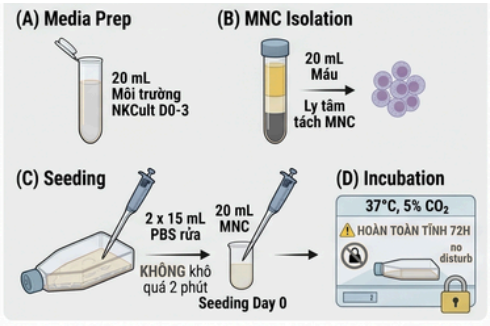
PHẦN III: QUY TRÌNH THỰC HÀNH CHUẨN

GIAI ĐOẠN 1: PHỦ FLASK (COATING) (NGÀY D-1)



1. **Bước 1.1**: Rã đông vial Coating Reagent (0,5 mL). Hút 15 mL dung dịch PBS vào ống ly tâm 50 mL.
2. **Bước 1.2:** Bơm toàn bộ hóa chất Coating vào ống PBS. Tráng lại vial bằng hỗn hợp này để thu hết phân tử protein. **CCP 2 - Kỹ thuật hòa trộn:** Dùng micropipette hút nhả nhẹ nhàng 3-5 lần để hòa trộn. **TUYỆT ĐỐI KHÔNG SỬ DỤNG MÁY VORTEX**. Lực xoáy ly tâm và bọt khí sẽ làm đứt gãy cấu trúc không gian 3D của protein, triệt tiêu hoàn toàn khả năng hoạt hóa.
3. **Bước 1.3**: Bơm toàn bộ 15.5 mL hỗn hợp vào bình T-75 Non-Treated (có bán kèm theo Kit). Chao nghiêng bình thật nhẹ nhàng theo hình chữ thập (+) để dung dịch phủ lấp lánh 100% diện tích mặt đáy.
4. **Bước 1.4**: Quấn màng Parafilm bít cổ bình và nắp (nắp có filter) để chống bay hơi. Đặt bình nằm ngang trên mặt phẳng tuyệt đối cân bằng trong tủ lạnh 4 °C ủ qua đêm.

GIAI ĐOẠN 2: PHÂN LẬP MNC VÀ NUÔI CẤY CHỌN LỌC (NGÀY D0 - D3)



1. **Bước 2.1**: Pha 20 mL Môi trường NKCult D0-3 hoàn chỉnh theo cách pha ghi trong Phần II, để sẵn ở nhiệt độ phòng.
2. **Bước 2.2**: Thu máu và thu MNC.

- ***2.2.a.*** *Thu 20 mL máu ngoại vi trực tiếp vào 3 ống MNC Collection tube (mỗi ống chứa khoảng 7-7,5 mL). Đảo nhẹ ống máu để trộn đều với chất chống đông ACD-A có sẵn trong ống.*
- ***2.2.b. Thao tác vô trùng (trong tủ ATSH), mở nắp 3 ống và bổ sung vào mỗi ống 330 uL dung dịch Seperation Supplement; trộn đều với máu; đậy nắp ống nhẹ nhàng và ủ trong 20 phút ở nhiệt độ phòng.***
- ***2.2.c.*** *Li tâm 3 ống máu trên tại tốc độ li tâm 1500g trong 15 phút. Đối với máy li tâm không có đơn vị tính theo g thì sử dụng tốc độ 3000 vòng/phút trong 15 phút; kết quả sẽ tốt hơn nếu sử dụng li tâm văng.*
- ***2.2.d.*** *Sau khi li tâm, lau bên ngoài ống bằng ethanol 70% và đưa vào tủ cấy an toàn sinh học. Hút lấy lớp tế bào ở pha giữa (interphase) chứa tế bào có nhân cho vào ống li tâm 50 mL. Bổ sung thêm 20 mL Washing Buffer vào ống li tâm riêng. Kết quả sẽ tốt hơn nếu sử dụng dung dịch Washing Buffer (Regenmedlab) thay vì PBS, vì trong dung dịch Washing Buffer Regenmedlab có chứa hệ đệm HEPES, EDTA nên làm tăng tỉ lệ sống sót và giảm hình thành cụm tế bào.*
- ***2.2.e.*** *Đặt ống li tâm trên vào máy li tâm và li tâm tại tốc độ 800g trong 10 phút hoặc 2000 vòng/phút trong 10 phút. Thu nhận cặn (pellet) tại đáy ống (pellet là tế bào MNC).*

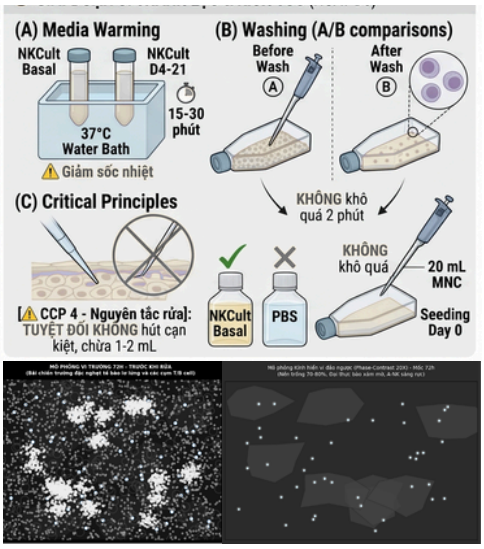
3. **Bước 2.3:** Nhẹ nhàng huyền phù toàn bộ khối MNC vào 20 mL Môi trường NKCult D0-3. *(Thông thường sẽ có mật độ mục tiêu đạt chuẩn: 1,5.10^6 tế bào/mL).*
4. **Bước 2.4: Thao tác nhanh tay:**

- Lấy bình T-75 (từ D-1) ra, hút bỏ phần dung dịch thừa.
- Bơm 15 mL PBS vô trùng, lắc tráng nhẹ đáy >> Hút bỏ. Lặp lại **THÊM 1 LẦN NỮA** để rửa trôi sạch protein lơ lửng.
- Hút kiệt giọt PBS cuối. Lưu ý: Chuyển ngay sang bước 5, KHÔNG để mặt đáy bị khô lộ ra không khí quá 2 phút.

5. **Bước 2.5: Gieo tế bào (Seeding)**: Bơm toàn bộ 20 mL huyền phù tế bào vào bình. Ghi nhãn "Day 0" và đưa vào tủ ủ (37 °C, 5% CO_2).

CCP 3 - Kỷ luật tủ ủ: Từ D0 đến D3, tế bào đang dò dẫm "nhận diện" bề mặt để được kích hoạt. Yêu cầu HOÀN TOÀN TĨNH. Tuyệt đối không xê dịch, không lắc, không lấy bình ra soi kính trong suốt 72 giờ. Nên có tủ ấm riêng hay khu vực riêng để nuôi, tránh mở cửa tủ ấm quá mạnh làm rung lắc bình.

GIAI ĐOẠN 3: TINH SẠCH LẦN 1 (NGÀY D_3)



Hình ảnh tế bào dưới kính hiển vi trước khi rửa (A) và sau khi rửa (B) vào ngày D3.

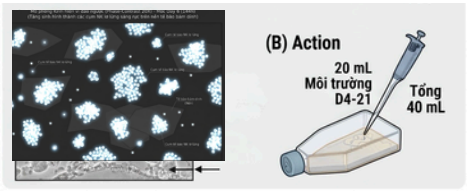
1. **Bước 3.1: Chuẩn bị môi trường (BƯỚC BẮT BUỘC) vào sáng ngày D3:**

- **3.1.a.** Lấy 10 mL môi trường NKCult Basal (đã trích ra từ đầu) để làm dịch rửa.
- **3.1.b**. Pha 20 mL môi trường nuôi NKCult D4-21 hoàn chỉnh. (Nếu Supplement rã đông có tủa tơ, ủ ấm và lắc nhẹ đến khi tan).
- **3.1.c.** Ủ ẤM cả 2 ống trong Water bath 37 °C ít nhất 15-30 phút. Bỏ qua bước này, màng tế bào sẽ bị sốc lạnh, co rút và chết hàng loạt.

2. **Bước 3.2: Vào sáng ngày D3:**
   a. **3.2.a. Loại bỏ tế bào rác**: Lấy bình T-75 ra thật nhẹ nhàng (tránh làm bong tế bào bám). Nghiêng dồn dịch xuống góc, dùng pipette hút bỏ toàn bộ môi trường cũ.
   b. **3.2.b. Rửa tế bào:** Bơm 10 mL dịch rửa (Basal ấm) vào góc đáy, hạ bình để dịch tràn lên mặt, nhấc nghiêng để cuốn trôi tế bào nổi >>> Hút bỏ dịch này. **CCP 4 - Nguyên tắc rửa**: TUYỆT ĐỐI KHÔNG dùng PBS để rửa bước này (gây sốc thẩm thấu). Khi hút dịch, LUÔN chừa lại 1-2 mL, cấm hút cạn kiệt làm khô màng tế bào đang bám.
   c. **3.2.c. Bổ sung môi trường mới**: Bơm 20 mL NKCult D4-21 ấm vào góc bình, để môi trường tự tràn phủ bề mặt. Không xối tia dịch trực tiếp lên mặt đáy. Trả bình lại tủ ủ.

Thao tác vào ngày D3 rất quan trọng; nếu rửa không sạch mẫu NK sẽ nhiễm tế bào T (mà CD4, CD8 và CD19 sẽ dương tính cao); nếu rửa quá sạch sẽ mất nhiều tế bào NK đang bám.

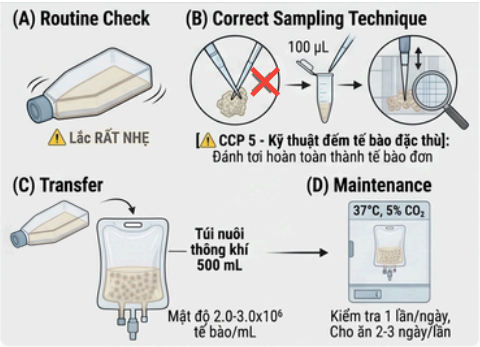
GIAI ĐOẠN 4: TĂNG SINH CỤM NK (NGÀY D6 - D9)



Các cụm tế bào NK vào ngày D6.

1. **Bước 4.1**: **Vào sáng này D6**:
   a. **4.1.a.** Ủ ấm 20 mL môi trường NKCult D4-21 (37 °C).
   b. **4.1.b.** Kiểm tra vi thể: Đưa lên kính hiển vi soi ngược. Dấu hiệu của sự thành công là xuất hiện các Cụm (Clusters) tế bào NK lơ lửng, trắng xóa, sáng rực trên nền tế bào bám dính.
   c. **4.1.c.** Bơm bổ sung 20 mL môi trường D4-21 ấm vào bình (*Tổng thể tích lúc này nâng lên 40 mL*). Tiếp tục ủ.
2. **Bước 4.2:** Vào ngày 7, ngày 8, ngày 9, thao tác nhẹ nhàng để xem mẫu tế bào hàng ngày; khi đã thấy xuất hiện nhiều cụm tế bào NK tương đối lớn và đã có một số cụm ***đã bong ra bề mặt dụng cụ nuôi*** (chừng > 2 cụm trên 1 thị trường ở vật kính 4x) thì nhanh chóng chuyển sang bước **Bước 5.1**.; không cần chờ đến ngày D9. Trong nhiều trường hợp, mẫu có thể chuyển sang bước tiếp theo vào ngày D7, hay D8.

GIAI ĐOẠN 5: CHỌN LỌC VÀ MỞ RỘNG QUY MÔ / SCALE-UP (NGÀY D9 - D21)



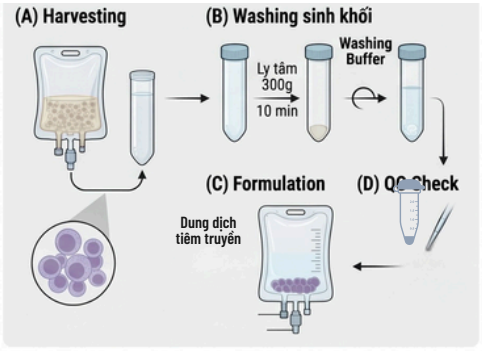
- **Bước 5.1:** Vào ngày D9 (có thể D7 hay D8), lắc flask nhẹ nhàng để các cụm tế bào NK bong lên (quan sát dưới KHV để xác nhận), lưu ý thao tác rất nhẹ nhàng để không bong róc tế bào monocytes/macrophages ở đáy bình mà làm độ tinh sạch của NK giảm.
- **Bước 5.2:** Hút hết huyền phù với các cụm tế bào NK cho vào Flask T-75 mới (loại nuôi cấy tế bào, tissue culture treated, *KHÔNG BÁN KÈM TRONG KIT*); đặt flask vào trong tủ ấm 37 oC, 5% CO2, ủ trong 24h.
- **Bước 5.3**: Hút hết huyền phù với các cụm tế bào NK cho vào ống li tâm 50 mL (bỏ các tế bào bám dính); dùng pipette hút nhả nhẹ nhàng để tách các cụm thành tế bào đơn.
- **Bước 5.4**: Li tâm tại 300 g trong 10 phút; thu cặn tế bào NK.
- **Bước 5.5:** Huyền phù cặn trên trong 60 mL môi trường hoàn chỉnh NKCult D4-21.
- **Bước 5.6**: Chuyển toàn bộ 60 mL huyền phù tế bào này vào túi nuôi; và đặt nuôi trong 37 oC, 5% CO2.
- **Bước 5.7:** Từ ngày này đến ngày 21; tiến hành quan sát hàng ngày, thao tác nhẹ nhàng không lắc mạnh túi và thêm môi trường mới theo lịch dưới đây.

Ngày	Môi trường	Lượng bổ sung thêm (mL)	Tổng lượng môi trường (mL)	Dụng cụ nuôi
D9	NKCult D4-21	60	60	Túi 500 mL
D11	NKCult D4-21	100	160	Túi 500 mL
D13	NKCult D4-21	100	260	Túi 500 mL
D15	***Bỏ bớt môi trường cũ***	***Hút bỏ 130 mL***	130	Túi 500 mL
D15	NKCult D4-21	100	230	Túi 500 mL
D17	NKCult D4-21	100	330	Túi 500 mL
D18-D20	***THU HOẠCH***			

Lưu ý thao tác bỏ bớt môi trường và thêm môi trường vào ngày D15:

- Để treo túi trong tủ ấm 2-3 giờ để các cụm NK lắng xuống đáy túi
- Nhẹ nhàng mang túi vào tủ cấy ATSH, đặt túi lên bề mặt tủ với phần trên của túi được vắt lên flask T75
- Dùng xi-lanh nối vào túi để hút lấy phần dịch nửa trên của túi, dịch thu được có thể còn lẫn NK nên cho vào trong các ống li tâm 50 mL
- Li tâm ống tại 300g trong 10 phút để thu tế bào NK ở đáy ống; huyền phù với 100 mL môi trường mới
- Bổ sung vào túi (sau khi bổ sung túi sẽ được khoảng 230 mL).

GIAI ĐOẠN 6: THU HOẠCH & CHUẨN BỊ LÂM SÀNG (HARVEST DAY)



1. **Bước 6.1:** Rút toàn bộ dịch cấy từ túi cho vào các ống ly tâm cỡ lớn. Ly tâm 300 g trong 10 phút. Hút bỏ hoàn toàn môi trường nuôi. *Lưu ý không li tâm tốc độ quá cao làm tổn thương tế bào NK.*
2. **Bước 6.2:** Rửa sinh khối tế bào bằng dung dịch Washing Buffer lâm sàng để loại bỏ protein tồn dư. Ly tâm lại.
3. **Bước 6.3:** Tái huyền phù khối sinh khối tế bào NK nguyên chất vào dung dịch tiêm truyền phù hợp.
4. **Bước 6.4:** Trích mẫu gửi sang bộ phận QC để kiểm định xuất xưởng (Batch Release).

PHẦN IV: KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM

IV.1. Các chỉ tiêu cần kiểm soát

Sản phẩm sinh khối NK cuối cùng, trước khi đóng gói truyền cho bệnh nhân, **BẮT BUỘC** phải vượt qua các chỉ tiêu kiểm nghiệm khắt khe sau:

STT	Tên chỉ tiêu	Phương pháp đánh giá	Kết quả
1	Độ sống (Viability)	Nhuộm bằng buồng đếm với trypan blue hay flow cytometry với 7-AAD	> 90 %
2	Định danh kiểu hình (Phenotype/Purity)	Flow cytometry với TBNK Kit (BD Bioscience)	> 80% CD3-CD56+
3	Độ vô trùng (Sterility)	Bactec/BacT-ALERT hay trải đĩa	Âm tính sau 14 ngày cho cả vi khuẩn và nấm
4	Mycoplasma	Realtime PCR	Âm tính
5	Nội độc tố (Endotoxin)	LAL Test	< 0.5 EU/mL hoặc < 5 EU/kg thể trọng bệnh nhân/giờ
6	Hoạt lực (Potency)	Khả năng tiêu diệt tế bào ung thư K562 khi đồng nuôi cấy	> 50% tế bào K562 bị li giải ở tỉ lệ trộn E:T là 20:1

IV.2. Lịch trình đánh giá các chỉ tiêu đối với mẫu chọn ngày thu hoạch là ngày 16

D0

D6

Chốt 1 (Ngày D6): Lúc này theo quy trình bạn đang đánh giá cụm và bơm thêm môi trường. Hãy trích 1-2 mL dịch nuôi cấy cho vào chai cấy máy tự động (BacT/ALERT).
- Giá trị: Sáng D16, mẫu này đã ủ được 10 ngày. Âm tính ở mốc này đủ để chứng minh 99% không có vi khuẩn/nấm phát triển chậm đi theo từ máu gốc bệnh nhân.

D12

Chốt 2 (Ngày D12): Đang trong giai đoạn Scale-up ở túi. Bạn trích tiếp 3-5 mL gửi cấy máy lần 2.
- Giá trị: Sáng D16, mẫu này ủ được 4 ngày. Đủ thời gian để tóm gọn bất kỳ vi khuẩn sinh trưởng nhanh nào xâm nhập trong quá trình thao tác chuyển túi. Mẫu tiếp tục nuôi đủ 14 ngày để phục vụ hồi cứu kết quả.

GIAI ĐOẠN 1: THIẾT LẬP CHỐT CHẶN VÔ TRÙNG KÉP (Ngày D6 & D12)

D14

Thao tác (Sáng D14): Rút khoảng 2-3 triệu tế bào từ túi NKCult Bag để làm bộ 3 test:
1. Mycoplasma.
2. Định danh kiểu hình (Flow Cytometry): Chạy bộ marker TBNK.
3. Hoạt lực (Potency Test): Bắt đầu ủ đồng nuôi cấy với K562.

GIAI ĐOẠN 2: THỜI ĐIỂM ĐÁNH GIÁ ĐẠI DIỆN (Ngày D14)

D16

- Độ sống & Đếm số lượng: nhuộm trypan blue hoặc 7-AAD (FCM)
- Nội độc tố (Endotoxin): nên sử dụng máy vi lưu (như Endosafe PTS) trực tiếp trên dịch thành phẩm cuối để có kết quả trong 15 phút.
- [Bonus QC] Nhuộm Gram nhanh: Phết lam kính soi 10 phút để loại trừ tạp nhiễm vi khuẩn đại thể phút chót.
- Cấy vô trùng Hậu kiểm: Trích 3-5 mL thành phẩm cuối cùng lưu cấy máy.

GIAI ĐOẠN 3: THỜI ĐIỂM THU HOẠCH (NGÀY D16)

IV.3. HỒ SƠ "XUẤT XƯỞNG CÓ ĐIỀU KIỆN" (PHIÊN BẢN D16)

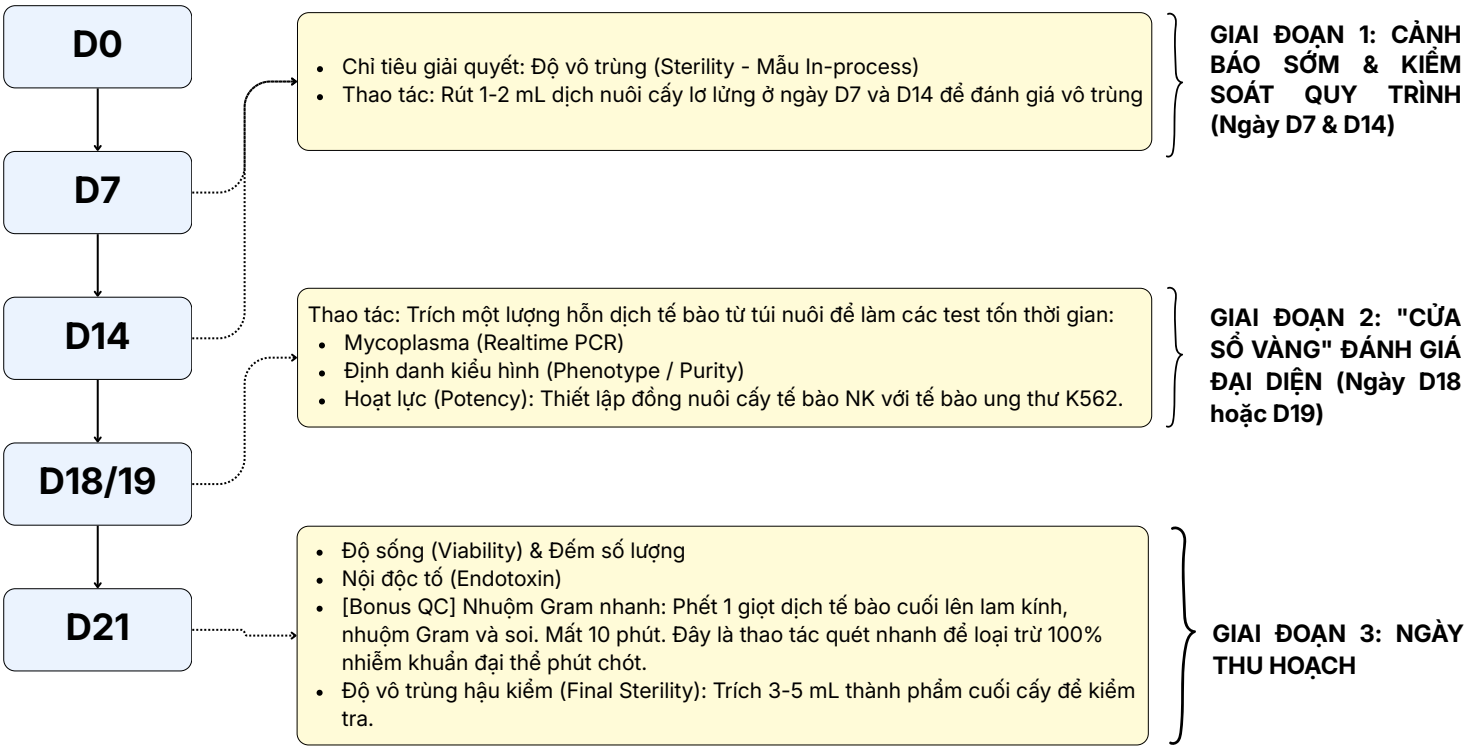
Vào thời điểm túi tế bào rời phòng Lab mang lên khoa lâm sàng, Hồ sơ Xuất xưởng trình Bác sĩ ký y lệnh sẽ có các thông tin như sau:

STT	Tên chỉ tiêu QC	Nguồn dữ liệu bảo chứng	Kết quả Release
1	Viability & Doses	Test nhanh trực tiếp sáng D16	PASS (Thường > 95% ở D16)
2	Endotoxin	Test nhanh trực tiếp sáng D16	PASS (< 0.5 EU/mL)
3	Sterility	Mẫu D6 (ủ 10 ngày) & Mẫu D12 (ủ 4 ngày). Mẫu D16 theo dõi hồi cứu.	PASS (Có điều kiện - An toàn cao)
4	Mycoplasma	Kết quả PCR lấy mẫu từ ngày D14	PASS (Âm tính)
5	Phenotype	Flow Cytometry chạy từ ngày D14	PASS (> 80% CD3-CD56+)
6	Potency	Test tiêu diệt K562 ủ từ ngày D14	PASS (> 50% li giải)

BÀI TOÁN CHẤT LƯỢNG VS SỐ LƯỢNG (YIELD):

Ở D16, tổng số lượng tế bào thu được chắc chắn sẽ ít hơn ở D21 (trên máu người khoẻ mạnh sẽ thu được 1.5 - 2 tỷ tế bào, thay vì 3 tỷ vào ngày D21). Cần lưu ý rằng! Tuyệt đối không kéo dài thời gian nuôi cấy quá mức để chạy theo số lượng. 1.5 tỷ tế bào có hoạt lực tối ưu ở D16 mang năng lực bám đuổi khối u (homing) và tồn tại sinh học (in vivo persistence) xuất sắc hơn rất nhiều so với đám đông 3 tỷ tế bào đã bắt đầu lão hoá vào ngày D21.
Để tăng lượng tế bào NK cần thu thêm máu.

IV.4. Lịch trình đánh giá các chỉ tiêu đối với mẫu chọn ngày thu hoạch là ngày 21

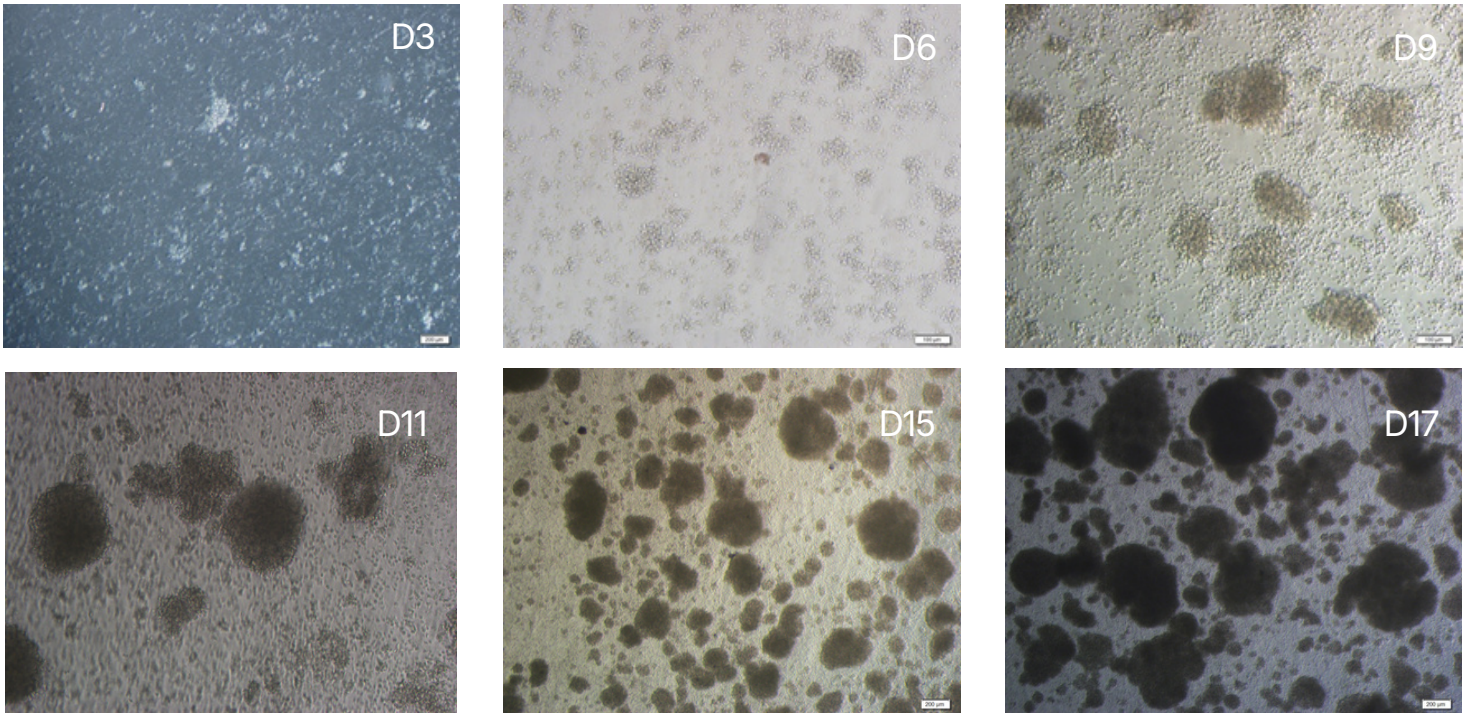


IV.5. HỒ SƠ "XUẤT XƯỞNG CÓ ĐIỀU KIỆN" (Phiên bản D21)

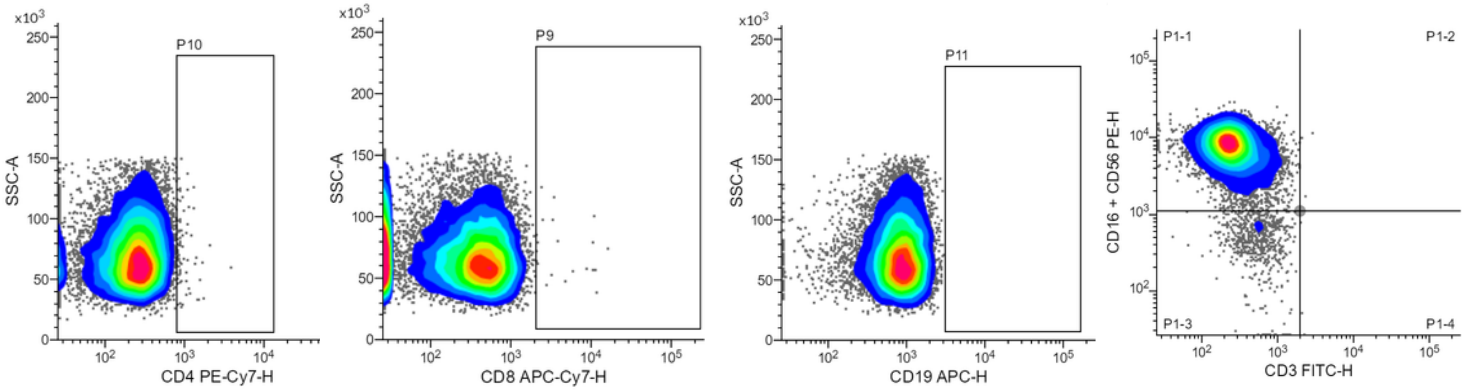
STT	Tên chỉ tiêu QC	Nguồn dữ liệu quyết định	Kết quả Release
1	Viability & Doses	Test trực tiếp D21 (Rapid test)	PASS (Thường > 95% ở D16)
2	Endotoxin	Test trực tiếp D21 (Rapid test)	PASS (< 0.5 EU/mL)
3	Sterility	Dựa trên mẫu cấy D7 và D14	PASS (Có điều kiện - An toàn cao)
4	Mycoplasma	Dựa trên mẫu PCR từ D18/19	PASS (Âm tính)
5	Phenotype	Chạy Flow Cytometry từ D18/19	PASS (> 80% CD3-CD56+)
6	Potency	Test diệt K562 từ D18/19	PASS (> 50% li giải)

Chế độ bổ sung môi trường tăng sinh NKCult D4-21 phổ biến

Ngày	Môi trường	Lượng bổ sung thêm (mL)	Tổng lượng môi trường (mL)	Dụng cụ nuôi
D3	NKCult D4-21	20	20	Flask T75
D6	NKCult D4-21	20	40	Flask T75
D9	NKCult D4-21	60	100	Túi 500 mL
D11	NKCult D4-21	100	200	Túi 500 mL
D13	NKCult D4-21	100	300	Túi 500 mL
D15	NKCult D4-21	100	400	Túi 500 mL
D17	NKCult D4-21	100	500	Túi 500 mL
D20-D21	***THU HOẠCH***			



Hình chụp dưới kính hiển vi mẫu nuôi tế bào NK vào ngày D3, D6, D9, D11, D15, và D17



Kết quả phân tích marker bề mặt tế bào NK sau khi nuôi

LIÊN HỆ TƯ VẤN

Hotline: 028 3636 1206

Website:
biomedmart.com.vn
biomedmart.org

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