

CryoSave

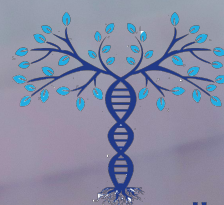
Giải pháp bảo quản đông lạnh hoàn hảo cho tế bào gốc

- 1 Serum Free
- 2 Protein Free
- 3 Xeno Free
- 4 DMSO Free
- 5 Non-toxic

Chúng tôi
không chỉ hiểu
tế bào gốc
mà còn hiểu
bạn



STEM CELL INSTITUTE



Regenmedlab

CryoSave là dòng sản phẩm môi trường sử dụng cho bảo quản tế bào gốc

CryoSave được bắt đầu nghiên cứu từ năm 2008 bởi Tiến sĩ Phạm Văn Phúc, tại Viện Tế bào gốc, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Tp.HCM. Với mục đích tạo ra một môi trường bảo quản đông lạnh hoàn hảo cho tế bào gốc, đến năm 2016, thế hệ **CryoSave** đầu tiên (**CryoSave I**) được hoàn thiện và đưa ra thị trường.

Năm 2017, thế hệ thứ 2 của môi trường CryoSave được nghiên cứu thành công (**CryoSave II**). Và đến năm 2019, thế hệ thứ 3 của CryoSave (**CryoSave III**) được nghiên cứu thành công.

CryoSave I, II và III là 3 thế hệ của môi trường bảo quản đông lạnh tế bào gốc với các công nghệ khác nhau, và mục đích sử dụng cũng khác nhau.





Bảo quản đông lạnh tế bào

Bảo quản đông lạnh (Cryopreservation) là một quá trình bảo quản tế bào, mô... ở nhiệt độ thấp. Ở nhiệt độ đủ thấp, hoạt tính của các enzyme bị ngưng lại hoàn toàn.

Một trong những thuyết quan trọng về đông lạnh được đề xuất bởi James Lovelock. Năm 1953, lần đầu tiên ông đã đề nghị rằng các tổn hại trên tế bào hồng cầu trong quá trình đông lạnh là do stress áp suất thẩm thấu.

Bảo quản đông lạnh được tiến hành ở tế bào người đầu tiên vào năm 1954 (đông lạnh tinh trùng).

Việc đông lạnh thường gây chết tế bào bởi vì sự hình thành các tinh thể nước đá bên trong tế bào chất mà gây vỡ cấu trúc protein, bào quan của tế bào. Vì thế, việc sử dụng chất bảo quản lạnh (cryoprotectant) đã giảm đáng kể những tác động bất lợi này. Một số chất bảo

quản lạnh được sử dụng trong bảo quản đông lạnh tế bào như DMSO, glycerol, polypropylene, trehalose... Trong đó DMSO là chất sử dụng nhiều nhất trong bảo quản tế bào gốc; đặc biệt là tế bào gốc trung mô.

Tuy nhiên, DMSO là chất độc với tế bào nên có nhiều tác động bất lợi lên tế bào. Nhiều công nghệ mới phát triển trong thời gian gần đây nhằm giảm nồng độ DMSO hay loại bỏ hoàn toàn chất bảo quản lạnh trong môi trường bảo quản đông lạnh tế bào gốc.

Trong thời gian gần đây, công nghệ off-the-shelf stem cell mở ra một kỉ nguyên mới cho tế bào gốc; và nhu cầu sử dụng môi trường bảo quản đông lạnh không độc, có thể tiêm truyền vào cơ thể cùng với tế bào gốc ngày càng tăng.

Tất cả các môi trường **CryoSave** đều không chứa protein và huyết thanh từ động vật.

Thành phần	CryoSave I	CryoSave II	CryoSave III
Fetal bovine serum	-	-	-
Animal protein	-	-	-
DMSO	5%	5%	-
Human Albumin	Yes	Yes	-
Protein	Yes	Yes	-
Injectable grade	-	Yes	Yes
Infusion grade	-	-	Yes
Defined	-	Yes	Yes



CryoSave I

Môi trường bảo quản đông lạnh thể hệ thứ nhất:

- Xeno Free (Không huyết thanh bò)
- Giảm DMSO (5%)



CryoSave II

Môi trường bảo quản đông lạnh thể hệ thứ hai:

- Xeno Free (Không huyết thanh bò)
- Serum Free (Không huyết thanh)
- Giảm DMSO (5%)



CryoSave III

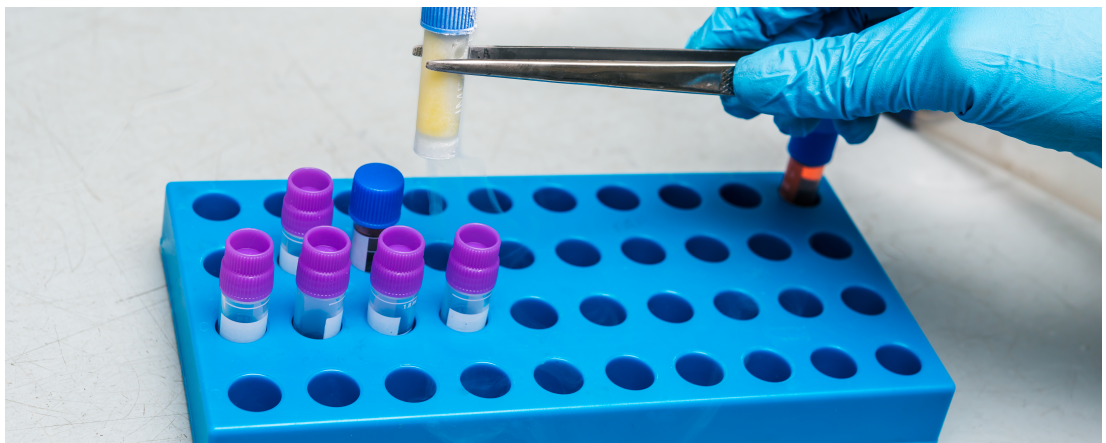
Môi trường bảo quản đông lạnh thể hệ thứ ba:

- Xeno Free (Không huyết thanh bò)
- Serum Free (Không huyết thanh)
- DMSO Free (Không DMSO)
- Protein Free (Không chứa thành phần protein)

Lưu ý: Các sản phẩm CryoSave II và CryoSave III được sản xuất theo tiêu chuẩn và đạt tiêu chuẩn cơ sở cho các sản phẩm tiêm truyền. Các sản phẩm này không phải là thuốc và không được đăng ký lưu hành như thuốc hay dịch truyền cho người. Việc sử dụng sản phẩm này trên người cần được nghiên cứu và đánh giá bởi đơn vị sử dụng theo quy định của pháp luật.

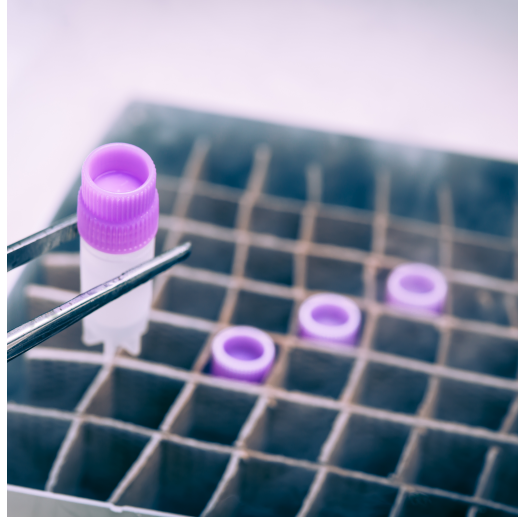
Với mục đích tạo ra một môi trường bảo quản đông lạnh tế bào gốc hiệu quả tế bào sống cao sau rã đông, an toàn khi sử dụng, tiện dụng; đặc biệt công nghệ tế bào gốc trung mô *off-the-shelf*; **CryoSave** là dòng sản phẩm đáp ứng mọi nhu cầu sử dụng của bạn từ nghiên cứu cơ bản, nghiên cứu ứng dụng và sản xuất sản phẩm tế bào gốc *off-the-shelf*.

Hầu hết các môi trường bảo quản đông lạnh hiện có trên thị trường phải bảo quản ở -20 oC hay 2-8 oC vì chứa các chất không ổn định ở nhiệt độ phòng. Do đó việc vận chuyển các sản phẩm này phức tạp và chi phí cao.



CryoSave - môi trường bảo quản đông lạnh duy nhất có thể lưu trữ và vận chuyển ở nhiệt độ phòng

	CryoSave I	CryoSave II	CryoSave III
Điều kiện vận chuyển	4 oC	RT	RT
Điều kiện bảo quản	4 oC	RT	RT
Thời hạn sử dụng	12 tháng		
Nồng độ dung dịch	1X		



Quy trình sử dụng đơn giản

Đông lạnh

STEP1

Tế bào được thu nhận sau khi nuôi cấy, rửa tế bào bằng dung dịch PBS, thu cận tế bào

STEP2

Huyền phù cận với môi trường đông lạnh CryoSave I, hay II hoặc III sao cho đạt mật độ 1-2 triệu tế bào/mL

STEP3

Đặt các ống chứa tế bào vào tủ mát 2-8 độ C trong 30 phút

STEP4

Đặt các ống chứa tế bào vào -20 độ C trong 120 phút

STEP5

Đặt các ống chứa tế bào vào -80 độ C. Trữ ở nhiệt độ trong 12 tháng; hoặc chuyển sang -196 độ C trữ trong thời gian dài

Rã đông

STEP1

Chuyển tế bào từ tủ -86 độ C hay -196 độ C ra nhiệt độ phòng (trong tủ an toàn sinh học)

STEP2

Cho 1 mL dung dịch Afterfreeze vào ống chứa tế bào (theo tỉ lệ 1:1 = Afterfreeze : CryoSave)

STEP3

Chờ 1-2 phút đến khi nước đá tan hoàn toàn, trộn đều tế bào. Tế bào sẵn sàng cho các ứng dụng.

STEP4

(Optional) Tế bào trong dung dịch CryoSave có thể rửa loại bỏ dung dịch bảo quản đông lạnh hoặc không tùy theo ứng dụng

CryoSave là kết quả của hơn 10 năm nghiên cứu bảo quản đông lạnh tế bào gốc nói chung và tế bào gốc trung mô nói riêng.

Việc bảo quản tế bào gốc trung mô thường được tiến hành bằng cách sử dụng môi trường nuôi bổ sung 10% DMSO. Trong môi trường nuôi chứa sẵn các chất dinh dưỡng với 10-20% FBS.

Tuy nhiên với môi trường bảo quản đông lạnh dạng này, nhiều yếu tố bất lợi đã được ghi nhận như:

- Môi trường chứa huyết thanh bò, không thể sử dụng trực tiếp trên người
- DMSO có tính độc cao trên tế bào và cả trên người

- Môi trường có độ ổn định thấp bởi vì chứa các thành phần ít ổn định chất lượng như huyết thanh bò
- Các môi trường này có rủi ro cao khi sử dụng để bảo quản tế bào gốc cho cấy ghép điều trị trên người

Loại bỏ chất bảo quản lạnh như DMSO ra khỏi công thức môi trường bảo quản đông lạnh là thách thức lớn nhất trong công nghệ bảo quản tế bào gốc off-the-shelf



CryoSave I

Thích hợp bảo quản tế bào gốc phục vụ cho nghiên cứu, nghiên cứu chuyển giao. Tế bào gốc cần rửa, loại bỏ dung dịch bảo quản trước khi sử dụng



CryoSave II

Thích hợp bảo quản tế bào gốc phục vụ cho nghiên cứu, nghiên cứu chuyển giao, nghiên cứu lâm sàng, sử dụng lâm sàng; không cần loại bỏ môi trường bảo quản



CryoSave III

Thích hợp sản xuất tế bào gốc off-the-shelf, thuốc tế bào gốc; không cần loại bỏ môi trường bảo quản trước khi sử dụng

Lưu ý: Các sản phẩm CryoSave II và CryoSave III được sản xuất theo tiêu chuẩn và đạt tiêu chuẩn cơ sở cho các sản phẩm tiêm truyền. Các sản phẩm này không phải là thuốc và không được đăng ký lưu hành như thuốc hay dịch truyền cho người. Việc sử dụng sản phẩm này trên người cần được nghiên cứu và đánh giá bởi đơn vị sử dụng theo quy định của pháp luật.

Tiêu chuẩn chất lượng

TEST/METHOD	SPECIFICATIONS	
	MIN	MAX
pH (20-25 oC)	7.00	8.00
Endotoxin	***	<= 1.000
Sterility (EP and USP)	Negative	Negative
Mycoplasma	Negative	Negative
Color	Clear Yellow	Clear Yellow

Tỉ lệ tế bào sống sau rã đông (%)	CryoSave I	CryoSave II	CryoSave III
Tế bào gốc trung mô từ mô mỡ người	>90%	>85%	>80%
Tế bào gốc trung mô từ tủy xương người	>90%	>90%	>80%
Tế bào gốc trung mô từ mô cuống rốn người	>90%	>85%	>80%
Tế bào gốc trung mô từ máu cuống rốn người	>90%	>90%	>80%



So sánh với các sản phẩm cạnh tranh

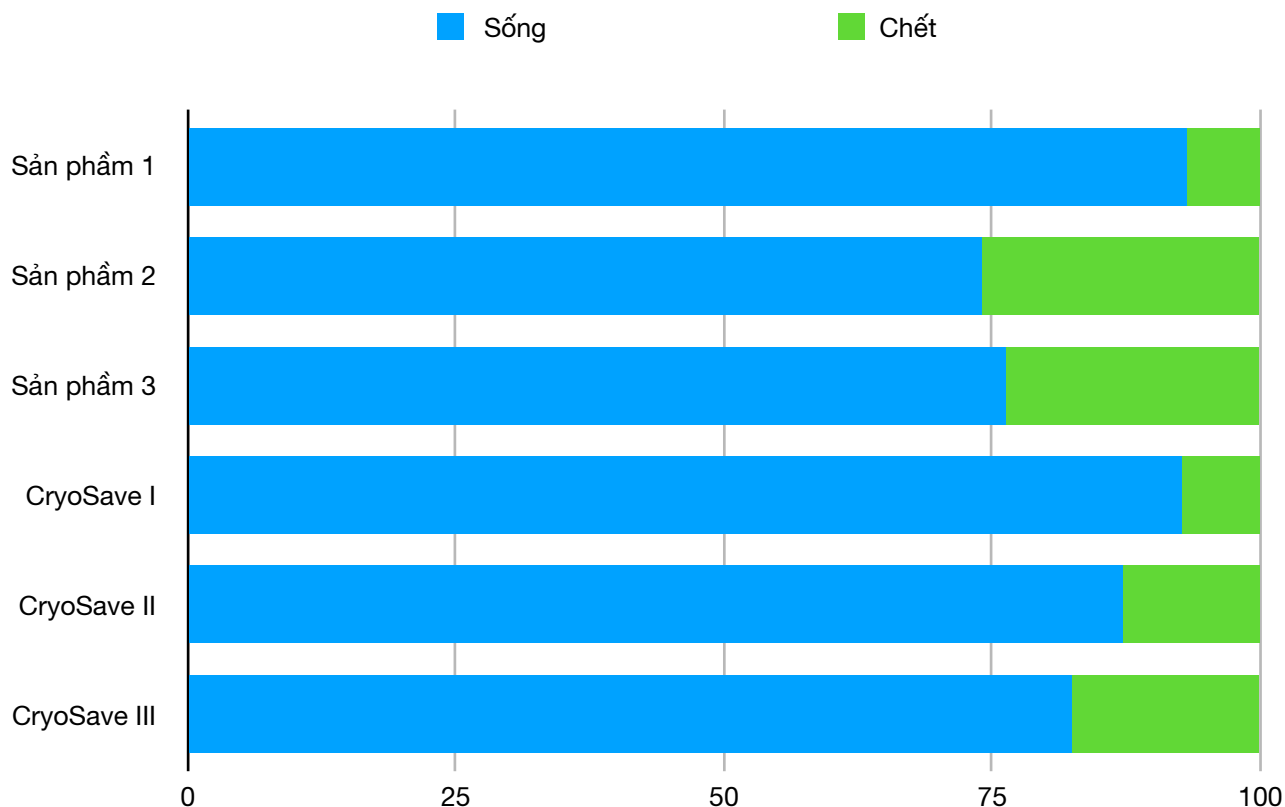
Nhìn chung sản phẩm

CryoSave có chất lượng tốt so với các sản phẩm cạnh tranh sử dụng bảo quản đông lạnh có sử dụng 10% DMSO, huyết thanh bò và các protein khác.



	Sản phẩm 1 (SP1)	Sản phẩm 2 (SP2)	Sản phẩm 3 (SP3)	CryoSave I (CSI)	CryoSave II (CSII)	CryoSave III (CSIII)
Điều kiện vận chuyển	-20 oC	- 20 oC	4 oC	4 oC	RT	RT
Điều kiện bảo quản	-20 oC	- 20 oC	4 oC	4 oC	RT	RT
Thời hạn sử dụng	12 tháng	12 tháng	12 tháng	12 tháng	12 tháng	12 tháng
Nồng độ sử dụng	1X	2X	1X	1X	1X	1X
Defined	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes
Xenoprotein	No	No	No	No	No	No
DMSO	10%	10%	10%	5%	5%	0%
Injectable grade	No	No	No	No	Yes	Yes
Transfusion grade	NO	No	No	No	No	Yes

So sánh với các sản phẩm cạnh tranh



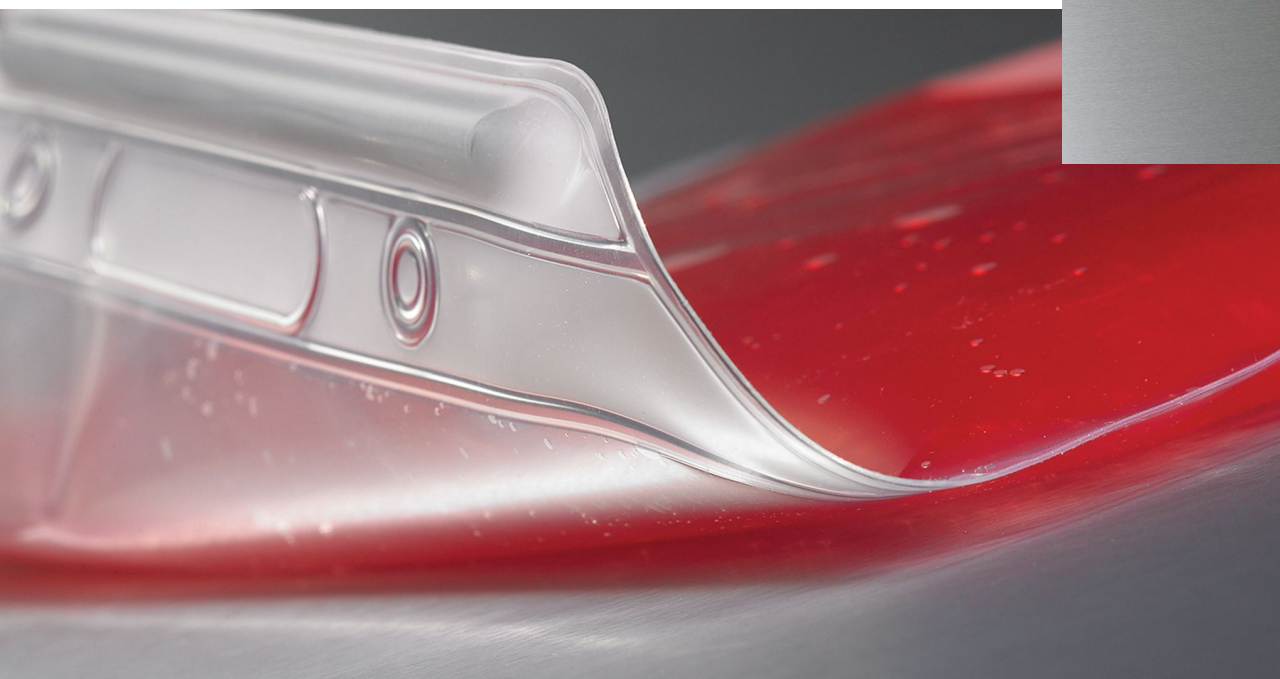
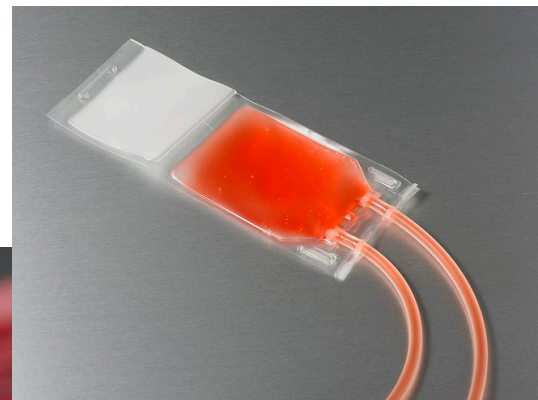
Hiệu quả sống sót của tế bào gốc trung mô thu từ mô mỡ được ghi nhận ở đồ thị trên cho thấy các môi trường **CryoSave** có hiệu quả sống sót cao, tương đương hay cao hơn một số môi trường đang được thương mại.

Môi trường **CryoSave III** (không có DMSO) cũng cho kết quả tế bào sống cao hơn 75%, đáp ứng tiêu chuẩn tối thiểu cho việc sử dụng mẫu tế bào gốc sau khi đông lạnh cho cấy ghép điều trị trên người (FDA, Mối khuyến cáo mẫu tế bào sau khi rã đông cần có hơn 70% tế bào sống khi sử dụng chúng cho cấy ghép (Mendicino, M., Bailey, A. M., Wonnacott, K., Puri, R. K., & Bauer, S. R. (2014). MSC-based product characterization for clinical trials: an FDA perspective. *Cell stem cell*, 14(2), 141-145.)





CryoSave III - giải pháp hoàn hảo cho thuốc tế bào gốc trung mô





STEM CELL INSTITUTE

Toà nhà B23, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,
Đại học Quốc gia Tp.HCM

Email: contact@sci.edu.vn

Website: www.vientebaogoc.edu.vn



Regenmedlab

1

Serum
Free

Protein
Free

2

3

Xeno
Free

DMSO
Free

4

5

Non-
toxic