

Quy trình

Phân lập tế bào đầu dòng và tế bào gốc từ mô mỡ người

- ▲ Tất cả các tiến trình phải được thực hiện trong các tủ an toàn sinh học.
- ▲ Tiến trình này chỉ có thể xử lý mô mỡ được hút ra từ người.
- ▲ Mô mỡ được hút ra có thể sử dụng tươi hay được lưu trữ ở 4 độ C trong vòng 24 giờ

- 1 Làm ấm trước mô mỡ được hút ra đến 37 độ C nếu mô mỡ được lưu trữ ở 4 độ C. Làm ấm dung dịch xử lý (dung dịch PBS vô trùng hoặc Lactated Ringer vô trùng) đến 37 độ C.
- 2 Đo thể tích mô mỡ (không bao gồm dịch thải); thể tích này sẽ được sử dụng để tính toán thể tích dung dịch xử lý và thể tích Celase GMP.
- 3 Rửa mô mỡ với một thể tích tương đương dung dịch xử lý là 2-3 lần hay cho đến khi hầu hết các tế bào máu được rửa sạch; điều này được nhận biết qua một màu trong suốt/hơi hồng của dung dịch xử lý sau khi tách rời khỏi mô mỡ.
- 4 Hoàn nguyên ống Celase GMP với 5ml dung dịch xử lý. Đảo ngược ống vài lần để hoà tan hoàn toàn enzyme thành một dung dịch trong suốt (tham khảo Hướng dẫn sử dụng của Celase GMP).
- 5 Cho mô mỡ đã rửa và loại bỏ dịch rửa vào một bình chứa vô trùng, thường có thể tích gấp 4 lần so với thể tích mô mỡ ban đầu. Thêm một thể tích tương đương dung dịch xử lý vào mô và thêm vào một thể tích thích hợp dung dịch Celase GMP vào bình chứa; đóng kín bình chứa.

Thể tích mô mỡ	Celase GMP	Thể tích mô mỡ	Celase GMP
100 mL	1.8 mL	270 mL	4.8 mL
120 mL	2.1 mL	290 mL	5.2 mL
135 mL	2.4 mL	305 mL	5.4 mL
150 mL	2.7 mL	320 mL	5.7 mL
170 mL	3.0 mL	340 mL	6.1 mL
190 mL	3.4 mL	360 mL	6.4 mL
205 mL	3.7 mL	375 mL	6.7 mL
220 mL	3.9 mL	390 mL	7.0 mL
240 mL	4.3 mL	410 mL	7.3 mL
260 mL	4.6 mL	425 mL	7.6 mL

- 6 Đặt bình chứa vào bể lắc chứa nước ở 37 độ C trong 25 ± 5 phút cho đến khi có thể quan sát được mô bị vỡ ra. Nếu không có sẵn bể lắc, xoay nhẹ nhàng các thành phần trong bình chứa bằng tay liên tục hoặc cứ mỗi 5 phút xoay 1 lần trong 25 ± 5 phút.
- 7 Thu dịch lắng vào trong các ống ly tâm 50ml. Đặt các ống trong một máy ly tâm và cô đặc các tế bào ở gia tốc 400g trong 5 phút ở nhiệt độ phòng với tốc độ hãm từ thấp đến trung bình.
- 8 Hút cẩn thận lớp lipid trên cùng, lớp dịch nổi và lớp dung dịch có chứa Celase GMP.
 - ▲ Không tác động lên phần cần tế bào và để lại 5-10 mL dung dịch trong ống.
- 9 Hoà cần tế bào trong mỗi ống 50mL với phần dung dịch còn lại. Gộp tất cả phần cần từ mỗi ống và sau đó rửa với dung dịch xử lý hai lần để loại trừ lượng enzyme tồn dư. Hoà phần cần tế bào tổng với 25-30 mL dung dịch xử lý và đi qua một cái lọc 100 µm tiếp đến là lọc 40 µm.
- 10 Ly tâm một lần nữa và hoà cần với lượng dung dịch xử lý còn lại để đạt được thể tích mong muốn cuối cùng dùng cho đếm tế bào và các nghiên cứu *in vitro*, *in vivo* sau đó.

▲ Đối với mô thu được từ phẫu thuật cắt mỡ ở người, cắt nhỏ phần mỡ rắn tách ra để đạt kích thước 3-5 mm³ sau đó thực hiện quy trình như đã đề cập ở trên để rửa mỡ và phân tách tế bào. Tỷ lệ giữa thể tích dung dịch xử lý so với thể tích mỡ có thể tăng lên tới 2:1. Thể tích Celase GMP có thể tăng lên gấp đôi. Tiến hành phần còn lại của quy trình cho đến khi thu được các tế bào đầu dòng và tế bào gốc để dùng cho các nghiên cứu *in vitro* và *in vivo*.

References: Fraser JK, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z. 'Adipose-derived stem cells.' Methods Mol Biol. 2008; 449:59-67

Cytori, the Cytori logo, Celase, and the Celase logo are trademarks or registered trademarks of Cytori Therapeutics, Inc. in the United States and other select countries.

©2015 Cytori Therapeutics, Inc. All rights reserved.

*Không được sử dụng trong các nghiên cứu lâm sàng trên người nếu chưa được sự cho phép của cơ quan quản lý.