

Công Nghệ Sản Xuất Tế Bào Miễn Dịch

Tháng 7 - 2023



01 Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào diệt tự nhiên (Natural killer cell – NK)

Tế bào diệt tự nhiên

Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào NK

07 Công nghệ cảm ứng và tăng sinh tế bào diệt cảm ứng cytokine (Cytokine-induced killer cell – CIK)

Tế bào diệt cảm ứng cytokine

Công nghệ cảm ứng và tăng sinh tế bào CIK

10 Công nghệ phân lập, chọn lọc và tăng sinh tế bào gamma-delta T

Tế bào gamma-delta T

Công nghệ phân lập, chọn lọc và tăng sinh tế bào gamma-delta T

13 Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào tua (Dendritic cell)

Tế bào tua

Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào tua

16 Công nghệ bảo quản tế bào miễn dịch



1 C H Ư Ơ N G

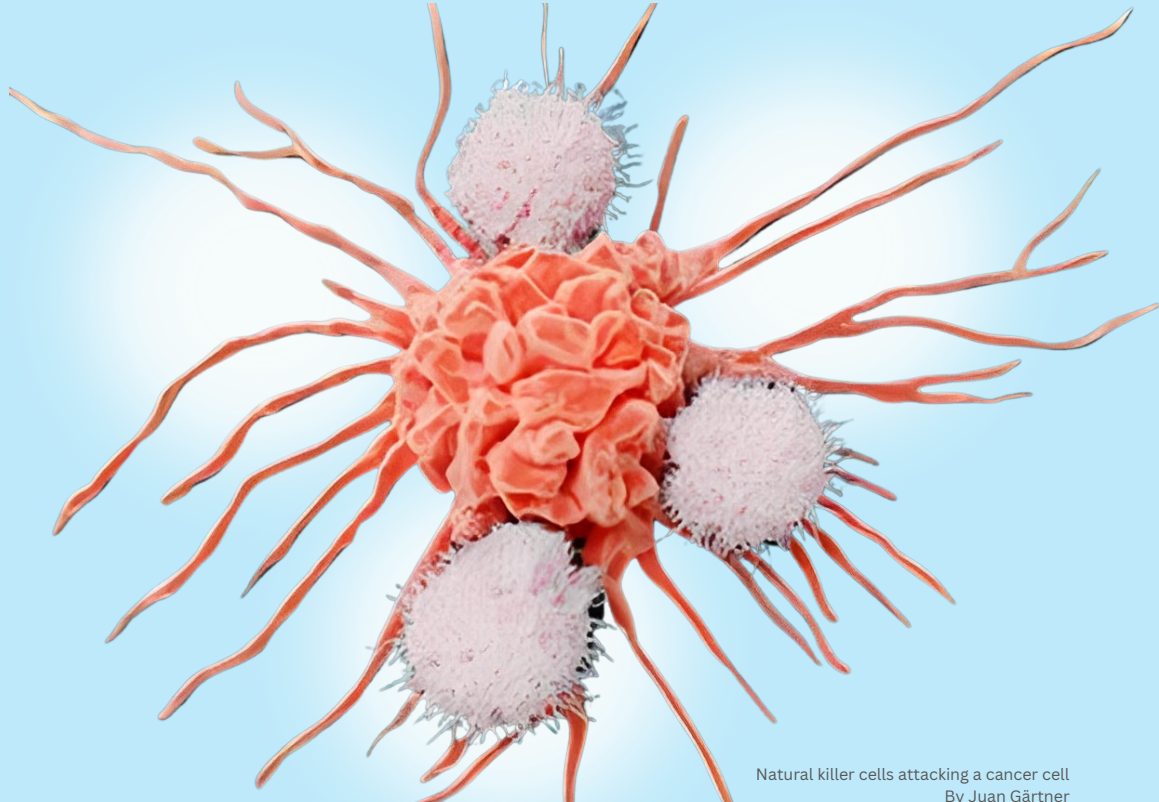
Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào diệt tự nhiên (natural killer cell – NK)

biomedmart.com.vn

Tế bào diệt tự nhiên

Vào năm 1975, Rolf Keissling và cộng sự ở Thụy Điển đã mô tả độc tính tế bào tự nhiên và xác định rằng có một loại tế bào miễn dịch có thể giết nhiều loại tế bào khối u. Từ quan sát này, Keissling đã đặt tên tế bào thực thi đó là tế bào diệt tự nhiên (natural killer cell). Các tế bào NK hiện diện từ 5-20% lượng tế bào tuần hoàn ở người. Các tế bào NK đáp ứng nhanh chóng với các tế bào nhiễm virus (chừng sau 3 ngày nhiễm) và đáp ứng với sự hình thành khối u. Các tế bào miễn dịch có thể phát hiện kháng nguyên được trình diện trong phức hợp MHC trong tế bào bị nhiễm, sau đó khởi sự phản ứng giải phóng cytokine, gây nên sự chết tế bào nhiễm theo cách apoptosis hay li giải tế bào.

Tuy nhiên, đối với tế bào NK, chúng có khả năng nhận diện và tiêu diệt tế bào bị stress trong điều kiện vắng mặt kháng thể và MHC, điều này cho phép đáp ứng của chúng với tác nhân gây bệnh rất nhanh. Chính vì điều này, chúng được gọi là diệt tự nhiên, vì chúng không cần các tín hiệu hoạt hóa để tiêu diệt tế bào sai sót trong MHC class 1. Điều này đặc biệt quan trọng vì các tế bào độc hại mà bị sai hỏng trong MHC 1 nên sẽ không được nhận diện và tiêu diệt bởi các tế bào miễn dịch khác, chẳng hạn tế bào lympho T.



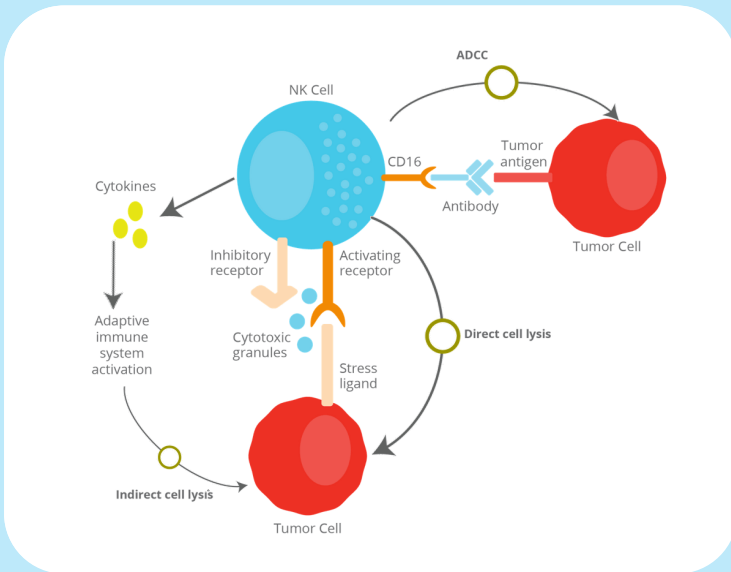
Natural killer cells attacking a cancer cell
By Juan Gärtner

Tế bào NK được xác định dựa vào sự hiện diện của phân tử CD56 và vắng mặt CD3 trên bề mặt tế bào. Kiểu hình miễn dịch tế bào NK là CD56+CD3-. Tế bào NK với kiểu hình CD56+CD3- còn được gọi là NK cổ điển (classic NK), bởi lẽ các nhà khoa học còn phát hiện một loại NK khác gọi là NKT. Tế bào NKT có marker bề mặt là CD56+CD3+. Điều này nghĩa là trong khi tế bào NK không biểu hiện T cell antigen receptor (TCR) thì tế bào NKT biểu hiện marker này.

Trong các tế bào NK, các nhà khoa học phát hiện có 2 nhóm phụ (subset) dựa trên mức độ biểu hiện marker CD56, bao gồm CD56bright và CD56dim. Tế bào NK với kiểu hình CD56brightCD3- được biết có chức năng giống T helper cell mà tác động bởi quá trình giải phóng cytokine, trong khi đó tế bào NK CD56dimCD3- có thể gây độc tế bào thông qua con đường ADCC (antibody-dependent cellular cytotoxicity).

Nhìn chung, sau khi tế bào NK phát hiện tế bào bị nhiễm hay tế bào bất thường, chúng sẽ tiêu diệt tế bào khối u thông qua một vài cơ chế:

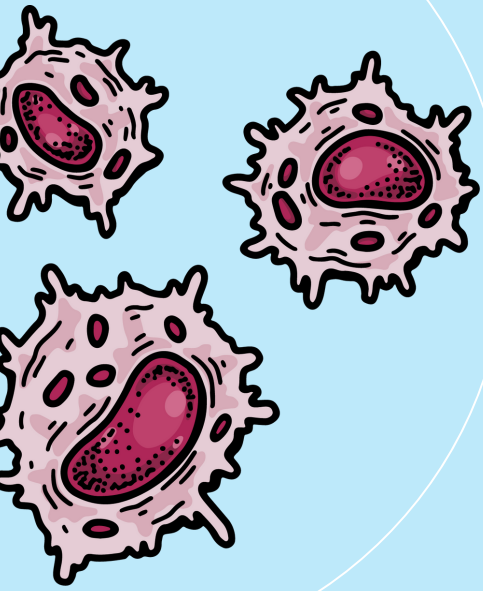
- Loại bỏ trực tiếp tế bào đích bằng cách giải phóng các hạt gây độc chứa granzyme và perforin.
- Loại bỏ gián tiếp tế bào đích bằng cách tiết ra cytokine và chemokine như các cytokine tiền viêm để nhận diện tế bào đích.
- Cơ chế gây độc tế bào phục thuộc vào kháng thể.



Các cơ chế tế bào NK tiêu diệt tế bào mục tiêu

Liệu pháp truyền tế bào diệt tự nhiên (natural killer cell – NK) hay còn gọi là truyền tế bào NK đã được sử dụng trong nhiều thử nghiệm lâm sàng trong thời gian gần đây. Nhìn chung liệu pháp này được sử dụng trong 2 mục đích:

- Truyền tế bào NK trong điều trị ung thư và ngăn ngừa ung thư tái phát.
- Truyền tế bào NK trong để khôi phục và tăng cường miễn dịch, đặc biệt trong trường hợp lão hóa.



Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào diệt tự nhiên

Nhằm đáp ứng nhu cầu phân lập và tăng sinh tế bào NK với lượng lớn phục vụ cho nghiên cứu và các thử nghiệm lâm sàng, Regenmedlab ra mắt bộ sinh phẩm NKcult để phân lập và tăng sinh tế bào NK.

NKcult là bộ hoá chất, vật tư dùng để tách, nuôi cấy tăng sinh tế bào NK từ máu ngoại vi dùng trong nghiên cứu hay các ứng dụng khác. NKcult là bộ sinh phẩm được thiết kế đầy đủ các vật tư và hoá chất để thu máu, thu tế bào MNC, nuôi cấy chọn lọc và tăng sinh tế bào NK. Do đó, người sử dụng không cần trang bị thêm những hoá chất vật tư khác để sử dụng. NKcult không dùng tế bào feeder, không dùng coating nên thao tác được tối giản nhằm giảm rủi ro của thao tác, tăng tính ổn định và tái lập của quy trình phân lập và tăng sinh tế bào NK. NKcult không chứa protein động vật, không cần bổ sung bất kì thành phần nào vào môi trường trước khi sử dụng.

Sản phẩm	Cat. No	Quy cách	Thể tích máu	Sản lượng tế bào thu hoạch*	Mức độ tinh sạch**
NKCult Mini	348	Bộ sản phẩm	7,5 mL	1–2 tỉ tế bào	> 50 %
NKCult	109	Bộ sản phẩm	15 mL	2– 4 tỉ tế bào	> 50 %
NKCult Max	349	Bộ sản phẩm	30 mL	4–8 tỉ tế bào	> 50 %
NKCult Pure Mini	350	Bộ sản phẩm	7,5 mL	1–2 tỉ tế bào	> 90 %
NKCult Pure	351	Bộ sản phẩm	15 mL	2–4 tỉ tế bào	> 90 %
NKCult Pure Max	352	Bộ sản phẩm	30 mL	4–8 tỉ tế bào	> 90 %

*Lượng tế bào thu nhận được sau 15 ngày nuôi, sản lượng phụ thuộc vào từng bệnh nhân

**Mức độ tinh sạch được xác định dựa vào tỉ lệ tế bào biểu hiện CD56+ bằng flow cytometry

NKCULT ĐƯỢC THIẾT KẾ THÀNH 2 NHÓM:

Nhóm kit có độ tinh sạch vừa phải (> 50%): các kit thuộc nhóm này được thiết kế tối giản các bước thao tác, không bao gồm bước loại bỏ các tế bào T (tế bào CD3+) trước khi nuôi cấy. Trong kit này, môi trường chọn lọc và làm giàu tế bào NK được sử dụng, và sau khi nuôi cấy độ tinh sạch của mẫu NK thu nhận được chiếm từ 50 – 80%. Nhóm này có 3 quy cách tương ứng với 3 lượng máu khác nhau, bao gồm: 7,5, 15 và 30 mL máu.

Nhóm kit có độ tinh sạch cao (> 90%): các kit thuộc nhóm này được thiết kế thêm bước loại bỏ tế bào T trước khi nuôi cấy chọn lọc và tăng sinh tế bào NK. Bằng cách này, tỉ lệ tế bào NK sau khi thu hoạch có độ tinh sạch cao (> 90%). Nhóm này có 3 quy cách tương ứng với 3 lượng máu khác nhau, bao gồm: 7,5, 15 và 30 mL máu.



2 C H Ư Ũ G

**Công nghệ phân lập và tăng
sinh tế bào diệt cảm ứng
cytokine (cytokine induced
killer cell – CIK)**

biomedmart.com.vn

Tế bào diệt cảm ứng cytokine

Tế bào diệt cảm ứng cytokine (cytokine-induced killer cell) là một nhóm các tế bào thực thi miễn dịch có đặc tính của cả tế bào T và tế bào diệt tự nhiên NK. Những tế bào này được tạo ra trong phòng thí nghiệm khi cảm ứng tế bào có nhân (MNC) từ máu ngoại vi hay máu cuống rốn với các cytokine thích hợp. Tế bào CIK lần đầu tiên được mô tả bởi G.H. Schmidt-Wolf vào năm 1991. Và tế bào CIK được sử dụng lần đầu trên người để điều trị ung thư vào năm 1999 cũng bởi G.H. Schmidt-Wolf.

Vì có kiểu hình của cả tế bào lympho T và tế bào NK mà các tế bào CIK có thể tiêu diệt mục tiêu bằng cả 2 cơ chế của lympho T và tế bào NK. Nghĩa là các tế bào CIK có thể tiêu diệt mục tiêu theo cơ chế giới hạn MHC hoặc không bị giới hạn bởi HMC.

Tế bào CIK đã được sử dụng trong điều trị ung thư nhiều năm trên người. Kết quả của nhiều thử nghiệm lâm sàng của hơn 10 năm qua cho thấy tế bào CIK có thể tiêu diệt các tế bào ung thư và cho tác dụng phụ thấp. Trong báo cáo 10 năm sử dụng CIK trong liệu pháp miễn dịch điều trị ung thư của Zhang và Schmidt-Wolf (2020) đã cho thấy đến thời điểm 2020 đã có 106 thử nghiệm lâm sàng với 10.225 bệnh nhân ung thư đã tham gia điều trị và có đăng ký trên IRCC. Các kết quả cho thấy tỉ lệ sống không bệnh trung bình và tỉ lệ sống tổng cộng đã cải thiện trong 27 nghiên cứu và 9 nghiên cứu có báo cáo về tỉ lệ sống sót sau 5 năm tăng đáng kể.

Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào diệt cảm ứng cytokine

CIKCult là công nghệ phân lập MNC từ máu ngoại vi, cảm ứng tạo CIK và tăng sinh CIK của nhãn hàng Regenmedlab. CIKCult là bộ sinh phẩm đầy đủ hóa chất và vật tư mà người sử dụng không cần chuẩn bị thêm để tiến hành sản xuất. Sản phẩm được nghiên cứu chế tạo phù hợp với 3 thể tích máu thu nhận khác nhau: 7,5 mL, 15 mL và 30 mL. Tùy theo thể tích máu thu nhận mà lượng tế bào thu nhận sau 15 ngày cũng khác nhau, từ 1-8 tỉ tế bào. Quần thể tế bào CIK thu nhận sẽ chứa quần thể CD56+CD3+ từ 20 đến 40%.

Sản phẩm	Cat. No	Quy cách	Thể tích máu	Sản lượng tế bào thu hoạch*	Quần thể tế bào CD3+CD56+
CIKCult Mini	346	Bộ sản phẩm	7,5 mL	1-2 tỉ tế bào	> 20 %
CIKCult	103	Bộ sản phẩm	15 mL	2-4 tỉ tế bào	> 20 %
CIKCult Max	347	Bộ sản phẩm	30 mL	4-8 tỉ tế bào	> 20 %

**Lượng tế bào thu nhận được sau 15 ngày nuôi, sản lượng phụ thuộc vào từng bệnh nhân*



3 C H Ư Ũ N G

**Công nghệ phân lập, chọn
lọc và tăng sinh tế bào
gamma-delta T**

biomedmart.com.vn

Tế bào gamma-delta T

Tế bào gamma-delta T là một nhóm tế bào T có biểu hiện TCR kiểu gamma-delta trên bề mặt chúng. Trong cơ thể người, hầu hết các tế bào lympho T biểu hiện TCR dạng alpha-beta với 2 chuỗi glycoprotein TCR thuộc dạng alpha và beta. Khác với nhóm này, tế bào gamma-delta T có 2 nhóm gamma và delta trong cấu trúc TCR. Tỷ lệ tế bào gamma-delta T tương đối thấp so với tế bào alpha-beta T. Điều đặc biệt mà tế bào gamma-delta T có được là chúng có thể tiêu diệt mục tiêu mà mục tiêu không được trình diện kháng nguyên trong lớp MHC của các tế bào trình diện kháng nguyên.

Chính khả năng nhận diện kháng nguyên không bị giới hạn bởi MHC và khả năng tiết cytokine mạnh, các tế bào gamma-delta T đã được sử dụng trong điều trị ung thư. Tuy nhiên tế bào gamma-delta T có 2 chức năng trong đáp ứng miễn dịch:

- Chức năng thực thi: tế bào gamma-delta T có thể tương tác với các phân tử trên bề mặt tế bào ung thư để tiết chất gây độc, tiết cytokine viêm và các kích hoạt các tế bào miễn dịch khác. Tế bào gamma-delta T còn có khả năng tiêu diệt tế bào đích thông qua cơ chế ADCC. Tế bào gamma-delta còn có thể tiết mạnh interferon gamma, IL-17 dẫn đến biểu hiện mạnh MHC-I, điều hòa dương tính tế bào T gây độc và cảm ứng đáp ứng kháng u. Tế bào gamma-delta T còn có thể tương tác với tế bào tua (dendritic cell) và phát triển các đáp ứng Th1.
- Chức năng điều hòa: các tế bào gamma-delta T có thể thực hiện chức năng điều hòa và ức chế quá trình TME của các yếu tố phiên mã FoxP3 và Helios và sự tương tác giữa CD86 và CTLA-4 của tế bào APC và tế bào gamma-delta T. Chúng có thể làm mất chức năng của tế bào miễn dịch khác như CD, NK, iNKT, tế bào lympho CD8.

Công nghệ phân lập, chọn lọc và tăng sinh tế bào gamma-delta T

Regenmedlab giới thiệu bộ sản phẩm $\gamma\delta$ Cult với quy trình thao tác đơn giản, giảm rủi ro nhiễm trong quá trình thao tác và tăng độ tái lập của các lần thực hiện. $\gamma\delta$ Cult chứa đầy đủ bộ dụng cụ và hóa chất sử dụng cho từng mẫu, được thiết kế cho 3 cỡ mẫu máu ngoại vi, gồm 7,5 mL, 15 mL và 30 mL. Quy trình tiến hành trong 15 ngày, sản lượng tế bào thu hoạch được lớn với hoạt lực mạnh.

Môi trường chọn lọc và tăng sinh tế bào gamma-delta hoàn toàn không chứa protein động vật, hoàn thiện nên không cần bổ sung bất kỳ thành phần bổ sung trước khi sử dụng. Môi trường nuôi cấy 48h đầu tiên có bổ sung kháng sinh và kháng nấm dùng để ức chế và tiêu diệt các tác nhân gây nhiễm nếu có trong quá trình thao tác.

Sản phẩm	Cat. No	Quy cách	Thể tích máu	Thể tích quần thể tế bào $\gamma\delta$ T
$\gamma\delta$ Cult Mini	353	Bộ sản phẩm	7,5 mL	> 90 %
$\gamma\delta$ Cult	354	Bộ sản phẩm	15 mL	> 90 %
$\gamma\delta$ Cult Max	355	Bộ sản phẩm	30 mL	> 90 %



4 C H Ư Ũ N G

Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào tua (Dendritic cell)

biomedmart.com.vn

Tế bào tua

Tế bào tua là một thành phần của hệ thống tế bào miễn dịch nên chúng cũng được hình thành từ tế bào gốc tạo máu trong tủy xương. Tế bào tua có thể được tạo ra từ tế bào đơn nhân CD14+ hoặc từ tế bào tiền thân CD34+. Trong điều kiện in vitro, chúng ta có thể tạo ra số lượng lớn tế bào tua để dùng cho các nghiên cứu và dùng trong trị liệu. Một phương pháp phổ biến là nuôi cấy các tế bào tiền thân từ tủy xương hoặc các tế bào đơn nhân với GM-CSF và IL-4.

Tế bào tua (dendritic cell) được phát hiện đầu tiên bởi Ralph M. Steinman vào năm 1973. Và công trình nghiên cứu này của Ralph M. Steinman đã được giải thưởng Nobel vào năm 2011. Liệu pháp truyền tế bào DC đã được tiến hành và cho thấy tính an toàn và tính khả thi của liệu pháp này trong điều trị ung thư.

Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào tua

Công nghệ phân lập và tăng sinh tế bào tua từ máu ngoại vi người đã được nghiên cứu bởi PGS.TS. Phạm Văn Phúc vào năm 2009. Sau gần 15 năm hoàn thiện, công nghệ hiện tại đã được tối giản các bước thao tác, hiệu quả cảm ứng tạo tế bào tua tiền trưởng thành hiệu quả cao. Bộ sinh phẩm DCCult phát triển từ công nghệ này chứa đầy đủ các thành phần vật tư và hóa chất cần thiết để thực hiện thu máu, thu MNC, cảm ứng MNC thành tế bào tua tiền trưởng thành. Môi trường nuôi DCCult hoàn toàn không chứa protein động vật, hoàn chỉnh để nuôi cấy trực tiếp

Sản phẩm	Cat. No	Quy cách	Thể tích máu	Thể tích quần thể tế bào tua
DCCult Mini	371	Bộ sản phẩm	7,5 mL	> 70 %
DCCult	372	Bộ sản phẩm	15 mL	> 70 %
DCCult Max	373	Bộ sản phẩm	30 mL	> 70 %



5 C H Ư Ơ N G

**Công nghệ bảo quản
tế bào miễn dịch**

biomedmart.com.vn

Công nghệ đông lạnh tế bào miễn dịch

DMSO được biết là độc và ức chế sự tăng sinh, sự tiết cytokine của các tế bào miễn dịch nên việc sử dụng DMSO trong dung dịch bảo quản cần sử dụng ở nồng độ thấp. Regenmedlab giới thiệu 2 môi trường dùng để đông lạnh tế bào miễn dịch trong đó công nghệ ImmuCryosave chứa 5% DMSO; công nghệ ImmuCryosave OTS TH không chứa DMSO. Các môi trường đều sử dụng nguyên liệu đạt tiêu chuẩn tiêm truyền nên tính an toàn cao. Tế bào sống sót cao sau khi rã đông, với > 90% tế bào sống.

Sản phẩm	Cat. No	Quy cách	Điều kiện vận chuyển	Điều kiện bảo quản	Chứa DMSO	Chứa trehalose	Tỉ lệ tế bào sống sau rã đông*
ImmuCryosave	342	100 mL	2-8°C	2-8°C	Có 5%	Không	>90%
	343	500 mL					
ImmuCryosave OTS TH	344	100 mL	RT	RT	Không	Có	>90%
	345	500 mL					

*Tỉ lệ tế bào sống sau rã đông được xác định bằng 2 phương pháp: đếm trên buồng đếm hồng cầu với chất nhuộm trypan blue và trên máy flow cytometer với chất nhuộm 7-AAD. Kết quả được normalize với tỉ lệ tế bào chết trước khi đông lạnh. Sự sống sót của tế bào NK sau đông bị tác động lớn bởi tình trạng tế bào trước khi đông lạnh. Kết quả này được xác lập dựa trên tế bào NK được tăng sinh sau 15 ngày sử dụng bộ kit NKcult.

Liên hệ đặt hàng

Quét mã QR
Đặt hàng ngay!



Đặt hàng qua email
contact@sci.edu.vn




Regen^oedlab

Cellatist

Stem^ofood
Next Generation Food



Dermaloka



 B2-3 Building, University of Science, VNUHCM
Linh Trung Ward, Thu Duc City, HCMC, Viet Nam

 contact@sci.edu.vn

 <https://cipp.com.vn>
<http://biomedmart.com.vn/>

 028 3636 1206