



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0033155

(51)⁷ C12N 5/0775

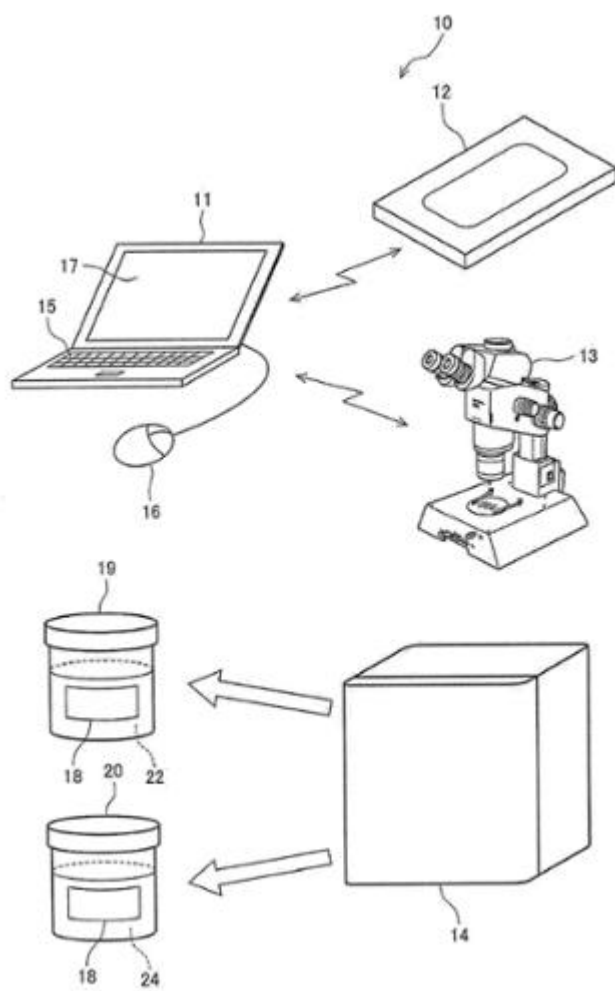
(13) B

(21) 1-2018-05125 (22) 27/04/2017
(86) PCT/JP2017/016702 27/04/2017 (87) WO2017/188370 02/11/2017
(30) 2016-088684 27/04/2016 JP; 2017-087339 26/04/2017 JP
(45) 25/09/2022 414 (43) 25/02/2019 371A
(73) KintaroCellsPower Co., Ltd. (JP)
22-37 Higashi-gotanda 5-chome, Shinagawa-ku, Tokyo 1410022, Japan
(72) GLADKOV Alexei (RU).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) PHƯƠNG PHÁP TẠO RA TẾ BÀO MẦM HOẠT HOÁ

(57) Sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa mà nhờ phương pháp này có thể tạo ra một cách hiệu quả loại tế bào mầm đơn ở trạng thái nghỉ và tạo ra lượng tế bào mầm hoạt hóa đơn cần thiết có đủ hoạt tính.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo sáng chế bao gồm bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ mà bơm dung dịch sản phẩm nuôi cấy được tạo ra trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn ở trạng thái nghỉ, dung dịch nuôi cấy định trước, và loại tế bào mầm đơn trước khi bảo quản các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào dụng cụ nuôi cấy thứ nhất có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước và cố định các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất này, và bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ mà nuôi cấy các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất nhờ bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, nuôi và hoạt hóa các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đến khi tổng diện tích trên mặt phẳng của các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất đạt tỷ lệ đích thứ nhất, và biến đổi các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ thành loại tế bào mầm hoạt hóa đơn.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa mà tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn bằng cách hoạt hóa loại tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đơn sau khi bảo quản loại tế bào mầm đơn được tạo ra bằng cách nuôi cấy dịch tủy xương thu được từ đối tượng cho trong khoảng thời gian định trước.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Phương pháp nuôi cấy tế bào mầm thường được mô tả bao gồm môi trường nuôi cấy để nuôi cấy tế bào mầm, và phương tiện chiếu xạ laze để chiếu xạ toàn bộ môi trường nuôi cấy bằng ánh sáng bức xạ laze khí cacbon dioxit có năng lượng bức xạ từ 0 đến 10 jun/cm² hoặc thấp hơn và mật độ công suất laze là 0,1 W/cm² hoặc nhỏ hơn để hoạt hóa các tế bào mầm trong môi trường, bằng cách phân kỳ năng lượng bức xạ đến công suất thấp 0,1 hoặc lớn hơn và 2,5 jun/cm² hoặc nhỏ hơn, và phương pháp này hoạt hóa các tế bào mầm như vậy bằng bức xạ laze công suất thấp và sau đó tăng sinh các tế bào mầm đến số lượng đích cho giai đoạn nghỉ định trước. Phương pháp nuôi cấy tế bào mầm có thể hoạt hóa và tăng sinh đáng kể các tế bào mầm có trong mô được lấy mẫu từ người hoặc đối tượng không phải người (động vật), hoặc tế bào của các đối tượng này.

Các tài liệu kỹ thuật đã biết

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: JP-A-2015-186465

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề được giải quyết bởi sáng chế

Các tế bào mầm, khi được tăng sinh bằng phương pháp nuôi cấy tế bào mầm và các phương pháp nuôi cấy tế bào mầm khác, được bảo quản trong tủ lạnh hoặc tủ đông, đặt ở nhiệt độ định trước trong khoảng thời gian định trước, và lấy ra khỏi tủ lạnh hoặc tủ đông để sử dụng. Việc bảo quản ở nhiệt độ thấp như vậy tạo ra các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ với mức độ hoạt động thấp, nhờ đó chắc chắn đưa các tế bào mầm ở trạng thái ngủ như vậy vào quy trình hoạt hóa, mà dẫn đến việc chỉ có một số các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ còn sống sót và các tế bào mầm khác còn lại bị chết. Các tế bào mầm ở trạng thái ngủ bị chết có thể ngăn cản sự tăng sinh các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ sống sót, do đó tăng sinh không hiệu quả các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ và tạo ra không đủ các tế bào mầm hoạt hóa với thể tích cần thiết từ các tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được tan băng.

Vì có nhiều loại tế bào mầm khác nhau trong mô hoặc các tế bào thu được từ đối tượng cho, việc nuôi cấy các tế bào mầm như vậy dẫn đến sự tăng sinh của bản thân chúng, và quy trình nuôi cấy không chỉ nuôi cấy loại tế bào mầm đơn đặc hiệu, do đó không thành công trong việc tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn bằng cách tăng sinh và hoạt hóa và loại tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đơn. Trên thực tế, các tế bào mầm hoạt hóa thường được sử dụng trong từng phương pháp điều trị bệnh (ví dụ, đối với các bệnh tim mạch và bệnh ở hệ thần kinh trung ương), trong thuốc tái tạo và các ứng dụng không điều trị, tuy nhiên, khi được nuôi cấy dưới dạng chứa nhiều loại khác nhau, các tế bào mầm hoạt hóa thu được tạo ra tác dụng trong từng loại điều trị bệnh và thuốc tái tạo thấp hơn so với chỉ một loại tế bào mầm hoạt hóa đơn và đặc hiệu.

Mục đích của sáng chế là đưa ra phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa có khả năng tăng sinh hữu hiệu loại tế bào mầm đơn ở trạng thái nghỉ và tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính với khối lượng cần thiết. Mục đích khác của sáng chế là cung cấp phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa có khả năng tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn không chứa các loại tế bào mầm hoạt hóa khác nhau và có tác dụng đáng kể hơn trong từng loại điều trị bệnh và thuốc tái tạo.

Biện pháp giải quyết vấn đề

Để giải quyết các vấn đề này, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa mà tạo ra một loại tế bào mầm hoạt hóa đơn bằng cách hoạt hóa một loại tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đơn sau khi bảo quản một loại tế bào mầm đơn được tạo ra bằng cách nuôi cấy dịch tủy xương thu được từ đối tượng cho trong khoảng thời gian định trước.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo sáng chế bao gồm: cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ để tạo ra một loại tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đơn, dung dịch nuôi cấy định trước, và dung dịch sản phẩm nuôi cấy được tạo ra trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ trong dụng cụ nuôi cấy thứ nhất có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước, và cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất; và nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ để nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đã cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất bằng bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, tăng sinh và hoạt hóa tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đến khi tổng diện tích tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đạt tỷ lệ đích thứ nhất của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và chuyển tế bào mầm ở trạng thái nghỉ thành loại tế bào mầm hoạt hóa đơn.

Ví dụ, theo sáng chế, ở bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái

nghi, dung dịch nuôi cấy hỗn hợp của dung dịch nuôi cấy và dung dịch sản phẩm nuôi cấy được xả khỏi dụng cụ nuôi cấy thứ nhất sau khi cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất bằng bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới được nạp vào dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được nuôi cấy, bằng dung dịch nuôi cấy hỗn hợp mới gồm dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới.

Ví dụ, theo sáng chế, ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được để đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 12 đến 24 giờ, sự biến dạng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được quan sát trong với khoảng cách thời gian 1 đến 2 giờ trong khoảng từ 12 đến 24 giờ, và khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bị biến dạng từ hình dạng phẳng ban đầu thành hình dạng phẳng định trước, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được xác định là đã được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất.

Theo ví dụ khác của sáng chế, hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ là hình dạng gần như tròn, và hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bị biến dạng chủ yếu là hình dạng gần như tròn, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ kéo dài ở dạng vô định hình theo một chiều, và ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bị biến dạng thành hình dạng dẹt vô định hình, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được xác định là đã được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất.

Theo ví dụ khác của sáng chế, tỷ lệ tích đầu tiên của tổng diện tích tế bào mầm ở trạng thái nghỉ là 70 đến 80% diện tích bề mặt đáy

của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và ở bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được để cho đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ, và tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ.

Theo ví dụ khác của sáng chế, phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa bao gồm: cố định tế bào mầm hoạt hóa để chiết từ dụng cụ nuôi cấy thứ nhất tế bào mầm hoạt hóa đơn khi tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đạt tỷ lệ đích thứ nhất của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, nạp tế bào mầm hoạt hóa đã chiết, dung dịch nuôi cấy mới, và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cấy thứ hai có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước, dung tích này lớn hơn dung tích của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai; và nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa để nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai nhờ bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, và tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa đến khi tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa đạt tỷ lệ đích thứ hai của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai.

Theo ví dụ của theo sáng chế, ở bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, dung dịch nuôi cấy hỗn hợp gồm dung dịch nuôi cấy và dung dịch sản phẩm nuôi cấy được xả khỏi dụng cụ nuôi cấy thứ hai sau khi cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai bằng bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới được nạp vào dụng cụ nuôi cấy thứ hai, và tế bào mầm hoạt hóa được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai được nuôi cấy, bằng dung dịch nuôi cấy hỗn hợp mới gồm dung dịch

nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới.

Theo ví dụ của sáng chế, ở bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, dụng cụ nuôi cấy thứ hai được để đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ, sự biến dạng của tế bào mầm hoạt hóa từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy thứ hai được quan sát với khoảng cách thời gian 1 đến 2 giờ trong khoảng từ 36 đến 48 giờ, và khi tế bào mầm hoạt hóa bị biến dạng từ hình dạng phẳng ban đầu thành hình dạng phẳng định trước, tế bào mầm hoạt hóa được xác định là đã được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai.

Theo ví dụ khác của sáng chế, hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm hoạt hóa là hình dạng gần như tròn, và hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa bị biến dạng chủ yếu là hình dạng gần như tròn, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm hoạt hóa kéo dài ở dạng vô định hình theo một chiều, và ở bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, khi tế bào mầm hoạt hóa bị biến dạng thành hình dạng dẹt vô định hình, tế bào mầm hoạt hóa được xác định là đã được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai.

Theo ví dụ khác của sáng chế, tỷ lệ đích thứ hai của tổng diện tích tế bào mầm hoạt hóa là 88 đến 92% diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai, và ở bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, dụng cụ nuôi cấy thứ hai được để cho đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ, và tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ.

Theo ví dụ khác của sáng chế, dung dịch sản phẩm nuôi cấy,

trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn, chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm đơn.

Theo ví dụ khác của sáng chế, loại tế bào mầm đơn được chuẩn bị bằng các bước: đầu tiên là cố định tế bào mầm để tách thành các lớp dịch tủy xương thu được từ đối tượng cho, chiết dịch tủy xương lớp trung gian nằm ở lớp trung gian của dịch tủy xương đã tách thành các lớp, nạp dịch tủy xương lớp trung gian và dung dịch nuôi cấy định trước vào dụng cụ nuôi cấy thứ ba có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước, và cố định tế bào mầm thứ nhất chứa trong dịch tủy xương lớp trung gian vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba; đầu tiên nuôi cấy tế bào mầm để xả dung dịch nuôi cấy trong dụng cụ nuôi cấy thứ ba sau khi cố định tế bào mầm thứ nhất vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba bằng bước đầu tiên cố định tế bào mầm, nạp dung dịch nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cấy thứ ba, nuôi cấy tế bào mầm đầu tiên, và tăng sinh tế bào mầm đầu tiên đến khi tổng diện tích của tế bào mầm đầu tiên đạt tỷ lệ đích thứ ba của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba; thứ hai cố định tế bào mầm để tách bằng cách ly tâm thành các lớp tế bào mầm đầu tiên được nuôi cấy bằng bước thứ nhất nuôi cấy tế bào mầm, chiết tế bào mầm thứ hai nằm ở lớp dưới dùng của tế bào mầm thứ nhất đã tách thành các lớp, nạp tế bào mầm thứ hai và dung dịch nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cấy thứ tư có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước, dung tích này lớn hơn dung tích của dụng cụ nuôi cấy thứ ba, và cố định tế bào mầm thứ hai vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư; và thứ hai nuôi cấy tế bào mầm để xả dung dịch nuôi cấy trong dụng cụ nuôi cấy thứ tư sau khi cố định tế bào mầm thứ hai vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư bằng bước thứ hai cố định tế bào mầm, nạp dung dịch nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cấy thứ tư, nuôi cấy tế bào mầm thứ hai, và tăng sinh tế bào mầm thứ hai đến khi tổng diện tích của tế bào mầm thứ hai đạt tỷ lệ đích thứ tư của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư.

Theo ví dụ khác của sáng chế, dung dịch sản phẩm nuôi cấy là dung dịch nuôi cấy còn lại thu được bằng cách chiết tế bào mầm đơn thứ hai từ dụng cụ nuôi cấy thứ tư.

Theo ví dụ khác của sáng chế, các tế bào mầm này là các tế bào mầm trung mô.

Hiệu quả của sáng chế

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo sáng chế nạp dung dịch sản phẩm nuôi cấy được tạo ra trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ để thúc đẩy việc cố định và tăng sinh một loại tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đơn vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, nhờ đó cố định ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy của nó, tăng sinh ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đến khi tổng diện tích đạt tỷ lệ đích thứ nhất, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy của nó, tăng sinh hiệu quả và chắc chắn loại tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đơn, và tạo ra một cách hữu hiệu loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính với khối lượng cần thiết từ tế bào mầm ở trạng thái nghỉ. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa này có thể tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn thuần khiết (sạch) không chứa tế bào mầm không mong muốn và các loại các tế bào mầm khác không chứa trong đó, nhờ đó cho phép tạo ra tế bào mầm hoạt hóa có tác dụng đáng kể trong từng loại điều trị bệnh và thuốc tái tạo, có khả năng sử dụng hữu hiệu trong điều trị từng loại bệnh theo cách thích hợp và kịp thời, và có khả năng sử dụng hữu hiệu trong tái tạo từng loại mô hoặc cơ quan theo cách thích hợp và kịp thời.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, mà xả dung dịch nuôi cấy hỗn hợp gồm dung dịch nuôi cấy và dung dịch sản phẩm nuôi cấy từ dụng cụ nuôi cấy thứ nhất sau khi cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ

vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, nạp dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, sử dụng dung dịch nuôi cấy hỗn hợp mới gồm dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới, thúc đẩy một cách chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bằng dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới được tạo ra trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, nhờ đó cho phép tăng sinh ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đến khi tổng diện tích đạt tỷ lệ đích thứ nhất, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới, tăng sinh hiệu quả và chắc chắn loại tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đơn, và tạo ra một cách hiệu quả loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính với thể tích cần thiết. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa này có thể tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn thuần khiết (sạch) không chứa tế bào mầm không mong muốn và các loại tế bào mầm khác không chứa trong đó, nhờ đó cho phép tạo ra tế bào mầm hoạt hóa có tác dụng đáng kể trong từng loại điều trị bệnh và thuốc tái tạo, có khả năng sử dụng hữu hiệu trong điều trị từng loại bệnh theo cách thích hợp và kịp thời, và có khả năng sử dụng hữu hiệu trong tái tạo từng loại mô hoặc cơ quan theo cách thích hợp và kịp thời.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được để đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 12 đến 24 giờ, sự biến dạng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng từ 12 đến 24 giờ, và khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bị biến dạng từ hình dạng phẳng ban đầu thành hình dạng phẳng định trước, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được xác định là đã được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, có thể cố định chắc chắn tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ

nhất bằng cách để cho dụng cụ nuôi cấy thứ nhất đứng yên ở góc nghiêng định trước trong 12 đến 24 giờ và chắc chắn thúc đẩy sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó sự biến dạng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ để khẳng định chính xác sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, có thể khẳng định chắc chắn sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ và chắc chắn tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ để tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ là hình dạng gần như tròn, và hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bị biến dạng chủ yếu là hình dạng gần như tròn, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ kéo dài ở dạng vô định hình theo một chiều, và ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bị biến dạng thành hình dạng dẹt vô định hình, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được xác định là được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, quan sát sự biến dạng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ từ hình dạng gần như tròn thành hình dạng phẳng tại đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất để xác định chính xác sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, nhờ đó cho phép khẳng định chắc chắn sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ trong dụng cụ nuôi cấy thứ nhất và sự tăng sinh chắc chắn tế bào mầm ở trạng thái nghỉ để tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó tỷ lệ đích thứ nhất của tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ là từ 70 đến 80% diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và ở bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được để

cho đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ, và tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, để cho dụng cụ nuôi cấy thứ nhất đứng yên ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ để chắc chắn thúc đẩy sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa này quan sát tổng diện tích với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ để khẳng định chắc chắn tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, nhờ đó cho phép khẳng định chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ trong dụng cụ nuôi cấy thứ nhất và sự tăng sinh chắc chắn tế bào mầm ở trạng thái nghỉ để tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa này, khi tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất vượt quá 80% để tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, làm giảm dần hoạt tính của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, và khi tổng diện tích của tế bào mầm thứ nhất so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất tăng đến mức 70 đến 80% để tăng sinh, chiết tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đã hoạt hóa từ dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, nhờ đó duy trì được hoạt tính của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được hoạt hóa để tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính từ tế bào mầm ở trạng thái nghỉ.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, mà chiết tế bào mầm hoạt hóa từ dụng cụ nuôi cấy thứ nhất khi tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đạt tỷ lệ đích thứ nhất của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, nạp tế bào mầm hoạt hóa đã chiết, dung dịch nuôi cấy mới, và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi

cây thứ hai có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước, dung tích này lớn hơn dung tích của dụng cụ nuôi cây thứ nhất, cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cây thứ hai, nuôi cây tế bào mầm hoạt hóa được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cây thứ hai, và tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa đến khi tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa đạt tỷ lệ đích thứ hai của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cây thứ hai, thúc đẩy sự cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cây thứ hai và sự tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa bằng dung dịch sản phẩm nuôi cấy được tạo ra trong quy trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn trước khi bảo quản tế bào mầm hoạt hóa (tế bào mầm ở trạng thái nghỉ), nhờ đó cho phép cố định ngay tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cây thứ hai, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy của nó, tăng sinh ngay tế bào mầm hoạt hóa đến khi tổng diện tích đạt tỷ lệ đích thứ hai, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy của nó, tăng sinh hữu hiệu và chắc chắn loại tế bào mầm hoạt hóa đơn, và tạo ra có hiệu quả loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính với khối lượng cần thiết. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa này có thể tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn thuần khiết (sạch) không chứa tế bào mầm không mong muốn và các loại tế bào mầm khác không chứa trong đó, nhờ đó cho phép tạo ra tế bào mầm hoạt hóa có tác dụng đáng kể trong từng loại điều trị bệnh và thuốc tái tạo, có khả năng sử dụng hữu hiệu trong điều trị từng loại bệnh theo cách thích hợp và kịp thời, và có khả năng sử dụng hữu hiệu trong tái tạo từng loại mô hoặc cơ quan theo cách thích hợp và kịp thời.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, mà xả dung dịch nuôi cấy hỗn hợp gồm dung dịch nuôi cấy và dung dịch sản phẩm nuôi cấy từ dụng cụ nuôi cây thứ hai sau khi cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cây thứ hai, nạp dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cây thứ hai, và nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cây thứ hai, sử

dụng cụ nuôi cấy hỗn hợp mới gồm dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới, thúc đẩy một cách chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa bằng dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới được tạo ra trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn trước khi bảo quản tế bào mầm hoạt hóa (tế bào mầm ở trạng thái nghỉ), nhờ đó cho phép tăng sinh ngay tế bào mầm hoạt hóa đến khi tổng diện tích đạt tỷ lệ đích thứ hai, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới, tăng sinh hiệu quả và chắc chắn loại tế bào mầm hoạt hóa đơn, và tạo ra một cách hiệu quả loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính với thể tích cần thiết. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa này có thể tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn thuần khiết (sạch) không chứa tế bào mầm không mong muốn và các loại tế bào mầm khác không chứa trong đó, nhờ đó cho phép tạo ra tế bào mầm hoạt hóa có tác dụng đáng kể trong từng loại điều trị bệnh và thuốc tái tạo, có khả năng sử dụng hữu hiệu trong điều trị từng loại bệnh theo cách thích hợp và kịp thời, và có khả năng sử dụng hữu hiệu trong tái tạo từng loại mô hoặc cơ quan theo cách thích hợp và kịp thời.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó dụng cụ nuôi cấy thứ hai được để đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ, sự biến dạng của tế bào mầm hoạt hóa từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy thứ hai được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng từ 36 đến 48 giờ, và khi tế bào mầm hoạt hóa bị biến dạng từ hình dạng phẳng ban đầu thành hình dạng phẳng định trước, tế bào mầm hoạt hóa được xác định là đã được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai, có thể cố định chắc chắn tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai bằng cách để cho dụng cụ nuôi cấy thứ hai đứng yên ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ và chắc chắn thúc đẩy sự tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó sự biến dạng của tế bào mầm hoạt hóa

từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy thứ hai được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong 36 đến 48 giờ để khẳng định chính xác sự cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai, có thể khẳng định chắc chắn sự cố định tế bào mầm hoạt hóa và chắc chắn tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa để tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm hoạt hóa là hình dạng gần như tròn, và hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa bị biến dạng chủ yếu là hình dạng gần như tròn, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm hoạt hóa kéo dài ở dạng vô định hình theo một chiều, và khi tế bào mầm hoạt hóa bị biến dạng thành hình dạng dẹt vô định hình, tế bào mầm hoạt hóa được xác định là được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai, quan sát sự biến dạng của tế bào mầm hoạt hóa từ hình dạng gần như tròn thành hình dạng phẳng tại đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai để xác định chính xác sự cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai, có thể khẳng định chắc chắn sự cố định tế bào mầm hoạt hóa trong dụng cụ nuôi cấy thứ hai và sự tăng sinh chắc chắn tế bào mầm hoạt hóa để tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó tỷ lệ đích thứ hai của tổng diện tích tế bào mầm hoạt hóa là từ 88 đến 92% diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai, và dụng cụ nuôi cấy thứ hai được để cho đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ, và tổng diện tích tế bào mầm hoạt hóa được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng từ 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, để cho dụng cụ nuôi cấy thứ hai đứng yên ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ để thúc đẩy chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm hoạt

hóa được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa quan sát tổng diện tích với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ để khẳng định chắc chắn tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai, nhờ đó cho phép khẳng định chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa trong dụng cụ nuôi cấy thứ hai và sự tăng sinh chắc chắn tế bào mầm hoạt hóa để tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa này, khi tổng diện tích tế bào mầm hoạt hóa so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai vượt quá 92% để tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa, làm giảm dần hoạt tính của tế bào mầm hoạt hóa, và khi tổng diện tích của tế bào mầm thứ hai so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai tăng đến mức 88 đến 92% để tăng sinh, chiết tế bào mầm hoạt hóa từ dụng cụ nuôi cấy thứ hai, nhờ đó duy trì hoạt tính của tế bào mầm hoạt hóa để tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó dung dịch sản phẩm nuôi cấy chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm đơn trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm đơn, bản thân chất chuyển hóa của tế bào mầm của nó gây ra sự hoạt hóa ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ hoặc tế bào mầm hoạt hóa. Theo đó, phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa thúc đẩy sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất và sự cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai và sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ trong dụng cụ nuôi cấy thứ nhất và sự tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa trong dụng cụ nuôi cấy thứ hai, nhờ đó cho phép cố định ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ hoặc tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy của nó, tăng sinh ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ hoặc tế bào mầm hoạt hóa đến khi tổng diện tích

đạt tỷ lệ đích, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy của nó, tăng sinh hiệu quả và chắc chắn loại tế bào mầm ở trạng thái nghỉ hoặc tế bào mầm hoạt hóa đơn, và tạo ra một cách hữu hiệu loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính với khối lượng cần thiết.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, mà tạo ra loại tế bào mầm đơn theo các bước: chiết dịch tủy xương lớp trung gian nằm ở lớp trung gian của dịch tủy xương được tách thành các lớp, và cố định tế bào mầm thứ nhất chứa trong dịch tủy xương lớp trung gian vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba; nuôi cấy tế bào mầm thứ nhất, và tăng sinh tế bào mầm thứ nhất đến khi tổng diện tích của tế bào mầm thứ nhất đạt tỷ lệ đích thứ ba của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba; chiết tế bào mầm thứ hai nằm ở lớp dưới cùng của tế bào mầm thứ nhất được tách thành các lớp, và cố định tế bào mầm thứ hai vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư lớn hơn; nuôi cấy tế bào mầm thứ hai, và tăng sinh tế bào mầm thứ hai đến khi tổng diện tích của tế bào mầm thứ hai đạt tỷ lệ đích thứ tư của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư, không chứa các loại tế bào mầm khác nhau, nhờ đó cho phép tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn thuần khiết (sạch) không chứa tế bào mầm không mong muốn, có hiệu quả đáng kể trong từng loại điều trị bệnh và thuốc tái tạo, có khả năng sử dụng hữu hiệu trong điều trị từng loại bệnh theo cách thích hợp và kịp thời, và có khả năng sử dụng hữu hiệu trong tái tạo từng loại mô và cơ quan theo cách thích hợp và kịp thời.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó dung dịch sản phẩm nuôi cấy là dung dịch nuôi cấy còn lại thu được bằng cách chiết tế bào mầm đơn thứ hai từ dụng cụ nuôi cấy thứ tư, để cho dung dịch nuôi cấy còn lại thu được bằng cách chiết tế bào mầm thứ hai chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm đơn, và chất chuyển hóa của tế bào mầm của nó gây ra sự hoạt hóa ngay tế bào mầm

ở trạng thái nghỉ hoặc tế bào mầm hoạt hóa. Theo đó, phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa thúc đẩy sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất và sự cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai và sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ trong dụng cụ nuôi cấy thứ nhất và sự tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa trong dụng cụ nuôi cấy thứ hai, nhờ đó cho phép cố định ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ hoặc tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy của nó, tăng sinh ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ hoặc tế bào mầm hoạt hóa đến khi tổng diện tích đạt tỷ lệ đích, sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy của nó, tăng sinh hiệu quả và chắc chắn loại tế bào mầm ở trạng thái nghỉ hoặc tế bào mầm hoạt hóa đơn, và tạo ra một cách hữu hiệu loại tế bào mầm hoạt hóa đơn có đủ hoạt tính với khối lượng cần thiết.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, trong đó các tế bào mầm như vậy là các tế bào mầm trung mô, có thể tăng sinh một cách hữu hiệu và chắc chắn loại tế bào mầm trung mô ở trạng thái nghỉ đơn hoặc tế bào mầm trung mô hoạt hóa đơn để tạo ra một cách có hiệu quả loại tế bào mầm trung mô hoạt hóa có đủ hoạt tính với khối lượng cần thiết. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa này có thể tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn thuần khiết (sạch) không chứa tế bào mầm không mong muốn và các loại tế bào mầm khác không chứa trong đó, nhờ đó cho phép tạo ra tế bào mầm hoạt hóa có tác dụng đáng kể trong từng loại điều trị bệnh và thuốc tái tạo, có khả năng sử dụng hữu hiệu trong điều trị từng loại bệnh theo cách thích hợp và kịp thời, và có khả năng sử dụng hữu hiệu trong tái tạo từng loại mô hoặc cơ quan theo cách thích hợp và kịp thời.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là sơ đồ khối minh họa ví dụ về hệ thống nuôi cấy tế bào

mầm hoạt hóa;

Fig. 2 là hình vẽ giải thích minh họa một ví dụ về bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ;

Fig. 3 là hình chiếu cạnh minh họa dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất;

Fig. 4 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ;

Fig. 5 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ;

Fig. 6 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ;

Fig. 7 là hình vẽ giải thích minh họa một ví dụ về bước cố định tế bào mầm hoạt hóa;

Fig. 8 là hình chiếu cạnh minh họa dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai;

Fig. 9 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa;

Fig. 10 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa;

Fig. 11 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa;

Fig. 12 là hình phối cảnh minh họa ống nghiệm thủy tinh được sử dụng ở bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất;

Fig. 13 là hình vẽ giải thích minh họa bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất sau bước trên Fig. 10;

Fig. 14 là hình vẽ giải thích minh họa bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất sau bước trên Fig. 11;

Fig. 15 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ về hình dạng phẳng của tế bào mầm;

Fig. 16 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm;

Fig. 17 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm;

Fig. 18 là hình phối cảnh minh họa ống nghiệm thủy tinh và thiết bị tách bằng ly tâm được sử dụng ở bước cố định tế bào mầm lần thứ hai;

Fig. 19 là hình phối cảnh minh họa ống nghiệm thủy tinh sau khi tách bằng ly tâm;

Fig. 20 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ về hình dạng phẳng của tế bào mầm (tế bào mầm thứ hai);

Fig. 21 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm (tế bào mầm thứ hai);

Fig. 22 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm (tế bào mầm thứ hai); và

Fig. 23 là sơ đồ minh họa ví dụ về tế bào mầm (tế bào mầm thứ hai) và dung dịch sản phẩm nuôi cấy được bảo quản.

Mô tả chi tiết sáng chế

Tham khảo các hình vẽ kèm theo như Fig. 1 minh họa sơ đồ khối của một ví dụ về hệ thống nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa 10, phương

pháp tạo ra loại tế bào mầm trung mô hoạt hóa đơn và cụ thể theo sáng chế sẽ được mô tả sau đây. Fig. 2 là hình vẽ giải thích minh họa một ví dụ về bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, và Fig. 3 là hình chiếu cạnh minh họa dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21. Fig. 4 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ về hình dạng phẳng của tế bào ở trạng thái nghỉ 22, và Fig. 5 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22. Các hình vẽ Fig. 4 và Fig. 5 minh họa hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được chụp bằng kính hiển vi điện tử 13.

Loại tế bào mầm trung mô hoạt hóa đơn 27 thu được bằng cách hoạt hóa loại tế bào mầm trung mô ở trạng thái nghỉ 22 ở trạng thái nghỉ sau khi bảo quản trong khoảng thời gian định trước loại tế bào mầm trung mô đơn và cụ thể 30 được chuẩn bị bằng cách nuôi cấy dịch tủy xương 29 thu được từ đối tượng cho. Tế bào mầm hoạt hóa 27 được tạo ra bằng cách cho tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 ở trạng thái nghỉ qua bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ và bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, bằng cách sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được chuẩn bị trong quá trình nuôi cấy tế bào mầm 30 làm thành phần tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22.

Tương tự, tế bào mầm hoạt hóa được tạo ra bằng cách cho tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 ở trạng thái nghỉ qua bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ và bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, cũng như bước cố định tế bào mầm hoạt hóa và bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, bằng cách sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được chuẩn bị trong quá trình nuôi cấy tế bào mầm 30 làm thành phần của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22. Tế bào mầm 30 trước khi được bảo quản và tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 sau khi được bảo quản là cùng loại tế bào mầm.

Dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm đơn 30 trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn 30. Bằng cách sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm đơn 30, chất chuyển hóa của tế bào mầm 30 của nó gây ra sự hoạt hóa ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 và tế bào mầm hoạt hóa 27. Theo đó, dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 thúc đẩy sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 và tế bào mầm hoạt hóa 27 và sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 và tế bào mầm hoạt hóa 27, nhờ đó cho phép cố định ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 hoặc tế bào mầm hoạt hóa 27, và bằng cách sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 của nó, tăng sinh ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 hoặc tế bào mầm hoạt hóa 27, và sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 của nó, tăng sinh hiệu quả và chắc chắn tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 hoặc tế bào mầm hoạt hóa 27.

Hệ thống nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa 10 được cung cấp máy vi tính 11, thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12, kính hiển vi điện tử 13, và tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14. Máy vi tính 11 bao gồm bộ xử lý trung tâm (CPU hoặc CPU ảo), bộ lưu trữ (bộ nhớ hoặc bộ nhớ ảo) và bộ lưu trữ dung lượng lớn (ổ đĩa cứng hoặc ổ đĩa cứng ảo, v.v.) được vận hành bằng hệ điều hành (OS - operating system) vật lý và hệ điều hành ảo (virtual operating system).

Máy vi tính 11 được kết nối với linh kiện đầu vào như bàn phím 15 và con chuột 16 và linh kiện đầu ra như màn hình 17 và máy in (không được thể hiện) thông qua giao diện (không dây hoặc có dây). Thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12 và kính hiển vi điện tử 13 được kết nối với máy vi tính 11 qua giao diện (không dây hoặc có dây). Kính hiển vi điện tử 13 bao gồm chức năng chụp ảnh để cho phép thiết bị cảm biến hình ảnh phóng to hình ảnh của một đối tượng và chức năng truyền hình ảnh

để truyền hình ảnh phóng to này đến máy vi tính 11.

Hệ thống nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa 10 sử dụng thẻ IC 18 để quản lý dữ liệu của đối tượng cho (thông tin cụ thể của đối tượng cho), cũng như dữ liệu tế bào mầm về tế bào mầm, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, và tế bào mầm hoạt hóa. Dữ liệu của người cho bao gồm tên người cho, địa chỉ thường trú, số điện thoại, ngày sinh, giới tính, nhóm máu, chiều cao, cân nặng, và địa chỉ e-mail, và dữ liệu người cho được lưu trữ trong thẻ IC để kết hợp với nhận dạng người cho.

Dữ liệu tế bào mầm bao gồm thông tin cụ thể về tế bào mầm, ngày tạo ra tế bào mầm, ngày tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy, và thông tin cụ thể về dung dịch sản phẩm nuôi cấy, và dữ liệu tế bào mầm được lưu trữ trong thẻ IC 18 để kết hợp với thông tin người cho và nhận dạng tế bào mầm.

Loại tế bào mầm đơn và cụ thể 30 được tạo ra bằng cách nuôi cấy dịch tủy xương 29 được đưa vào dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19, và bảo quản trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14 ở nhiệt độ định trước (3 đến 5°C hoặc làm lạnh) trong khoảng thời gian định trước. Thẻ IC 18 lưu trữ dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào mầm được gắn trên bề mặt chu vi ngoài của dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 mà bảo quản tế bào mầm 30.

Dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được tạo ra trong quá trình nuôi cấy tế bào mầm 30 làm thành phần của tế bào mầm hoạt hóa 27 (tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22) được đưa vào dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20, và bảo quản trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14 ở nhiệt độ định trước trong khoảng thời gian định trước. Thẻ IC 18 lưu trữ dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào mầm được gắn trên bề mặt chu vi ngoài của dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 mà bảo quản dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24.

Khi hệ thống 10 được kích hoạt trên máy vi tính 11, màn hình

ban đầu (không thể hiện) được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Màn hình ban đầu hiển thị nút nuôi cấy tế bào mầm, nút nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, nút nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, và nút đăng xuất. Người phụ trách như bác sĩ, y tá, và nhà nghiên cứu nhấn nút nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị nút so sánh dữ liệu trên bộ hiển thị 17.

Ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, người phụ trách nhấn nút so sánh dữ liệu, lấy dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 hoặc dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 ra khỏi tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14, và để cho thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12 đọc dữ liệu của thẻ IC 18 gắn vào dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 hoặc dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20. Máy vi tính 11 so sánh nhận dạng người cho hoặc nhận dạng tế bào mầm của thẻ IC 18 của dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 với nhận dạng người cho hoặc nhận dạng tế bào mầm của thẻ IC 18 của dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20, và khi nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm của các thẻ IC 18 khớp nhau, thông điệp khớp OK và nút lưu trữ dữ liệu được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm của các thẻ IC 18 không khớp nhau, máy vi tính 11 hiển thị thông điệp lỗi trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách, sau khi khẳng định rằng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được bảo quản trong dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 bằng thông điệp khớp OK được tạo ra trong quá trình nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 (tế bào mầm) được bảo quản trong dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19, bảo quản dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 và dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 trong bể có nhiệt độ không đổi (không thể hiện), và giữ tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được bảo quản trong dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được bảo quản trong dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 lại ở

nhiệt độ trong phòng. Theo cách khác, dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 và dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 được để yên trong phòng trong khoảng thời gian định trước, và tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được bảo quản trong dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được bảo quản trong dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 được giữ lại ở nhiệt độ trong phòng.

Người phụ trách chuẩn bị dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất), gắn thẻ IC 18 lên bề mặt chu vi ngoài của dụng cụ nuôi cấy 21, và sau đó nhấn nút lưu trữ dữ liệu, và sử dụng thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12, lưu trữ trên thẻ IC 18 của nó dữ liệu của thẻ IC 18 được gắn vào dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 và dữ liệu của thẻ IC 18 được gắn vào dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20. Máy vi tính 11 hiển thị thông điệp kết thúc lưu trữ dữ liệu, nút quan sát sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, và nút kết thúc sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách giữ tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 lại ở nhiệt độ trong phòng, và sử dụng bơm hoặc pipet, nạp (bảo quản) tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất) từ dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19, và sử dụng bơm hoặc pipet, nạp (bảo quản) dung dịch nuôi cấy 23 vào dụng cụ nuôi cấy 21, và sử dụng bơm hoặc pipet, nạp (bảo quản) dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 vào dụng cụ nuôi cấy 21 từ dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20. Tỷ lệ nạp dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 là từ 5 đến 15%, tốt hơn là từ 8 đến 12%, tốt hơn nữa là 10%, so với tổng lượng nạp (100%) của dung dịch nuôi cấy 23 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy 21.

Sau đó, người phụ trách giữ dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 mà tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, dung dịch nuôi cấy 23, và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 đã được nạp vào trong đó ở khoảng cùng nhiệt độ

như nhiệt độ cơ thể (khoảng 37°C), để dụng cụ này đứng yên trong 12 đến 24 giờ (đứng yên không di chuyển), quan sát sự biến dạng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy 21 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ, và xác định rằng tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được cố định vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21.

Dung dịch nuôi cấy 23 chứa dung dịch muối khoáng và axit amin chứa penicillin (khoảng 100U/ml), amphotericin (khoảng 100ng/ml), streptomycin (khoảng 100mkg/ml), L-glutamin (khoảng 2 đến 4ml), và 20% huyết thanh bào thai bò. Tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 được cố định vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21 theo thời gian, được nuôi cấy bằng dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 gồm dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24, và tăng sinh dần (biệt hóa) trên đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21 để tạo thành khuẩn lạc.

Dung dịch nuôi cấy 23 có thể là môi trường Eagle cải biến của Dulbecco (DMEM), môi trường thiết yếu tối thiểu Gragrow (GMEM), RPMI640, và tương tự. Dung dịch nuôi cấy 23 có thể chứa insulin, transferrin, etanolamin, selen, 2-mercaptoetanol, L-alanyl-L-glutamin, natri pyruvat, L-alanin, L-asparagin, axit L-aspartic, glyxin, L-prolin, và L-serin.

Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất) được làm bằng thủy tinh trong suốt hoặc nhựa trong suốt, và dụng cụ dẹt mà hình dạng phẳng của nó gần như có hình dạng chữ nhật thông thường, có dung tích nhỏ và đáy có diện tích định trước. Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 có thể là dụng cụ chứa dẹt mà hình dạng phẳng của nó là tròn hoặc e-líp, có dung tích nhỏ và đáy có diện tích định trước. Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 được sử dụng như phương tiện cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ có dung tích khoảng 20 đến 30cc (tốt hơn

là 25cc), và diện tích bề mặt đáy khoảng 25 đến 36mm². Dụng cụ nuôi cấy 21 có chiều dài cạnh từ 5 đến 6mm.

Người phụ trách nhấn nút quan sát sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, và thiết lập (đặt) dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 vào giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13. Miếng đệm 42 được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13 và phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 để giữ cho phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy 21 được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy 21 và phần đỉnh 43 (miệng nạp 44) của dụng cụ nuôi cấy 21 ở các vị trí lần lượt cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy 21 ở góc nghiêng định trước. Ngoài ra, miếng đệm 42 có thể được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13 và phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 để giữ cho phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy 21 được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy 21 và phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy 21 ở các vị trí lần lượt cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy 21 ở góc nghiêng định trước. Góc nghiêng α 1 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 nằm trong khoảng từ 2 đến 5°, tốt hơn là từ 2 đến 3°.

Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy đặt dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 ở một góc nghiêng so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39, nhờ đó cho phép tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 trong dụng cụ nuôi cấy 21 nghiêng về phía phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy 21 (hoặc về phía phần đáy 41), khiến cho áp lực nước của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 gia tăng về phía phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy 21 (hoặc về phía phần đáy 41), cho phép tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 tập trung ở phía phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy 21 (hoặc về phía phần đáy 41), và vì vậy

gia tăng hoạt tính của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 để cố định ngay và dễ dàng tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21.

Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng việc quan sát sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đang diễn ra và nút kết thúc cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ. Kính hiển vi điện tử 13 chụp hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy 21 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ, và truyền hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 đến máy vi tính 11 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khoảng cách thời gian giữa việc chụp hoặc truyền hình ảnh trong kính hiển vi điện tử 13 có thể được cài đặt từ 1 đến 2 giờ bằng linh kiện đầu vào như bàn phím 14 và con chuột 15.

Máy vi tính 11 lưu trữ hình ảnh phóng to về hình dạng dẹt của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trong vùng lưu trữ để kết hợp với nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm. Máy vi tính 11 hiển thị ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trên bộ hiển thị 17. Người phụ trách xác nhận (nhận biết bằng mắt thường) hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ, và quan sát các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22. Người phụ trách có thể quan sát trực tiếp các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 từ cửa sổ quan sát của kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ.

Hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 (hình dạng phẳng trước khi cố định) là hình dạng gần như tròn, và hình

dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 là hình dạng gần như tròn, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 không được cố định vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21 (bề mặt trong của thành đáy), không cho phép tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 bắt đầu tăng sinh (biệt hóa). Hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 bị biến dạng (hình dạng phẳng sau khi được cố định) chủ yếu là hình dạng gần như tròn trước khi được cố định, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 kéo dài (giãn ra) ở dạng vô định hình theo một chiều (chiều định trước), nhờ đó cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21 (bề mặt trong của thành đáy) và cho phép tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 bắt đầu tăng sinh (biệt hóa).

Người phụ trách, theo quan sát ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, được minh họa trên Fig. 4, khi hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 giữ nguyên hình dạng gần như tròn như đã quan sát thấy, xác định rằng tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 không được cố định vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 (bề mặt trong của thành đáy), và liên tục quan sát các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Người phụ trách, như được minh họa trên Fig. 5, khi hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 11 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 bị biến dạng từ gần như tròn đến chủ yếu gần như tròn và hình dạng dẹt vô định hình, xác định rằng tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 11 đã được cố định vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21.

Việc sử dụng dụng cụ nuôi cấy lớn trong đó dung tích vượt quá 30cc và diện tích bề mặt đáy vượt quá 36mm² khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được cố định không dễ dàng cố định được tế bào ở trạng thái nghỉ 22 vào bề mặt đáy của dụng cụ chứa và làm chậm sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, nhưng phương pháp tạo ra dung dịch

sản phẩm nuôi cấy, sử dụng dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 có dung tích và diện tích bề mặt đáy, có thể dễ dàng cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21 và tăng sinh ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 trong dụng cụ nuôi cấy 21. Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy cho phép dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể trong khoảng thời gian 12 đến 24 giờ, và quan sát sự biến dạng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy 21 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ, nhờ đó luôn khẳng định được sự biến dạng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 và xác nhận chính xác sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21.

Fig. 6 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22. Fig. 6 là hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được chụp bằng kính hiển vi điện tử 13. Theo quan sát ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, như được minh họa trên Fig. 5, loại tế bào mầm trung mô ở trạng thái nghỉ 22 bị biến dạng từ gần như tròn (hình dạng phẳng ban đầu) đến chủ yếu gần như tròn và hình dạng dẹt vô định hình, và tiếp sau bước xác nhận sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 là bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ.

Người phụ trách như bác sĩ, y tá, và nhà nghiên cứu, sau khi xác nhận sự cố định của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21, nhấn nút kết thúc cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút kết thúc cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị thông điệp kết thúc cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, nút quan sát nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, và nút kết thúc nuôi cấy tế bào

mầm ở trạng thái nghỉ trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách xả dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 gồm dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 khỏi dụng cụ nuôi cấy 21 ở bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, và nạp (bảo quản) dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 (dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được tạo ra trong quá trình nuôi cấy tế bào mầm 30 làm thành phần của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22) vào dụng cụ nuôi cấy 21. Tỷ lệ nạp dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 là từ 5 đến 15%, tốt hơn là từ 8 đến 12%, tốt hơn nữa là 10%, so với tổng lượng nạp (100%) của dung dịch nuôi cấy 23 mới được nạp vào dụng cụ nuôi cấy 21.

Người phụ trách lấy dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 ra khỏi giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 16, và xả dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 gồm dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy 21 từ dụng cụ nuôi cấy 21 ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, và nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy 21, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, và nạp (bảo quản) dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 vào dụng cụ nuôi cấy 21 từ dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 120, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet. Dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 là cùng loại với các dung dịch được nạp vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ.

Người phụ trách để cho dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể (khoảng 37°C) trong 36 đến 48 giờ (đứng yên không di chuyển), quan sát tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được cố định vào đáy 25 của dụng cụ nuôi

cây 21 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 21 bồn kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 có đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ nhất) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 21 hay không. Tỷ lệ đích của tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 là từ 70 đến 80% (70 đến 80% hợp đồng) diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21.

Người phụ trách, sau khi nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21, nhấn nút quan sát nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, và đặt (thiết lập) dụng cụ nuôi cấy 21 vào giá giữ mẫu của kính hiển vi điện tử 13. Miếng đệm 42 được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 16 và phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 để giữ cho phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy 21 được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy 21 và phần đỉnh 43 (miệng nạp 44) của dụng cụ nuôi cấy 21 ở các vị trí lần lượt cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy 21 ở góc nghiêng định trước (xem Fig.3). Ngoài ra, miếng đệm 42 có thể được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 16 và phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 để giữ cho phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy 21 được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy 21 và phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy 21 ở các vị trí lần lượt cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy 21 ở góc nghiêng định trước. Góc nghiêng α_1 của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 nằm trong khoảng từ 2 đến 5°, tốt hơn là từ 2 đến 3°.

Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy, sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, xả dung dịch nuôi cấy

hỗn hợp 26 trong dụng cụ nuôi cấy 21 và nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 vào dụng cụ nuôi cấy 21, nhờ đó thúc đẩy chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22. Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy đặt dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 ở một góc nghiêng so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39, nhờ đó cho phép tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 trong dụng cụ nuôi cấy 21 nghiêng về phía phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy 21 (hoặc về phía phần đáy 41), khiến cho áp lực nước của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 gia tăng về phía phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy 21 (hoặc về phía phần đáy 41), cho phép tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 tập trung về phía phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy 21 (hoặc về phía phần đỉnh 43), và vì vậy gia tăng hoạt tính của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 để cố định ngay và dễ dàng tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21.

Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng việc quan sát sự nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đang diễn ra và nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ. Người phụ trách, sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, tháo dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 gồm dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 khỏi dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21, nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm đơn vào dụng cụ nuôi cấy 21, và chất chuyển hóa của tế bào mầm 30 của nó gây ra sự hoạt hóa ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 để thúc đẩy chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22.

Kính hiển vi điện tử 13 chụp hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được nạp vào dụng cụ nuôi

cây 21 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ, và truyền hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 đến máy vi tính 11 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khoảng cách thời gian giữa việc chụp hoặc truyền hình ảnh trong kính hiển vi điện tử 13 có thể được cài đặt từ 1 đến 2 giờ bằng linh kiện đầu vào như bàn phím 14 và con chuột 15. Máy vi tính 11 lưu trữ hình ảnh phóng to về hình dạng dẹt của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trong vùng lưu trữ để kết hợp với nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm. Máy vi tính 11 hiển thị ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách xác nhận (nhận biết bằng mắt thường) hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và quan sát tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được cố định vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 21, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 có đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ nhất) (70 đến 80% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 21 hay không. Người phụ trách có thể quan sát trực tiếp tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 21 từ cửa sổ quan sát của kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 có đạt tỷ lệ đích (70 đến 80% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 21 hay không.

Người phụ trách, theo quan sát ở bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, như được minh họa trên Fig. 4, khi tổng diện tích của tế

bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 không đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ nhất) (70 đến 80% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21, liên tục quan sát tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 21 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khi tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ nhất) của tổng diện tích của hình ảnh phóng to được hiển thị trên bộ hiển thị 17, tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được xác định là đạt tỷ lệ đích của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21.

Theo quan sát ở bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được tăng sinh trên đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 (bề mặt trong của thành đáy) để cho phép tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 tạo thành khuẩn lạc và hình dạng phẳng của nó giãn ra, như được minh họa trên Fig. 5, khi tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ nhất) (70 đến 80% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 21, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được tăng sinh đủ và được hoạt hóa, và tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 được biến đổi thành tế bào mầm hoạt hóa 27. Khi tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 đạt tỷ lệ đích của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21, tế bào mầm hoạt hóa 27 được chiết từ dụng cụ nuôi cấy 21 và tế bào mầm hoạt hóa 27 được chiết như vậy được sử dụng để điều trị từng loại bệnh hoặc thuốc tái tạo.

Người phụ trách xả dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 từ dụng cụ nuôi cấy 21, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, và sau khi rửa dụng cụ nuôi cấy 21 bằng PBS, nạp dung dịch trypsin vào dụng cụ nuôi cấy 21. Khi dung dịch trypsin được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21, tế bào mầm hoạt hóa 27 được

cố định vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy 21 bong ra khỏi đáy 25 nhờ dung dịch trypsin, nổi lên bề mặt của dung dịch trypsin. Người phụ trách hút tế bào mầm hoạt hóa 27 bằng pipet, và bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 trong pipet. Người phụ trách có thể bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 được nuôi cấy ở bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ trong dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19, dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 mà bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14, và bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14.

Người phụ trách, sau khi xác nhận rằng tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ nhất) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21, nhấn nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị màn hình ban đầu trên bộ hiển thị 17. Khi quy trình nuôi cấy hoàn tất, nút đăng xuất trên màn hình ban đầu được nhấn. Khi nút đăng xuất được nhấn, máy vi tính 11 thoát ra khỏi hệ thống.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, bằng cách sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ tế bào mầm 30 của nó được tạo ra trong quá trình nuôi cấy (tăng sinh) loại tế bào mầm trung mô đơn 30 trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, cho phép chất chuyển hóa của tế bào mầm 30 của nó gây ra sự hoạt hóa ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 để thúc đẩy sự cố định và tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất 21 (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất), và duy trì hoạt tính của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 và tăng sinh ngay tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, bằng cách sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được tạo ra trong quá trình nuôi cấy

(tăng sinh) loại tế bào mầm trung mô 30 đơn trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22, cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất), và sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 của nó, tăng sinh tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 đến khi đạt tổng diện tích đạt tỷ lệ đích thứ nhất, nhờ đó cho phép cố định và tăng sinh hiệu quả chắc chắn loại tế bào mầm trung mô ở trạng thái nghỉ đơn 22, và tạo ra một cách hiệu quả loại tế bào mầm trung mô hoạt hóa đơn 27 có đủ hoạt tính với khối lượng cần thiết.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa có thể tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa thuần khiết (sạch) 27 không chứa tế bào mầm không mong muốn bằng cách đưa loại tế bào mầm trung mô ở trạng thái nghỉ 22 qua các bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ và nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, và không chứa các loại tế bào mầm khác nhau không, nhờ đó cho phép tạo ra tế bào mầm hoạt hóa 27 có tác dụng đáng kể trong từng loại điều trị bệnh và thuốc tái tạo, và có khả năng tạo ra tế bào mầm hoạt hóa 27 để điều trị từng loại bệnh và để tái tạo từng loại mô và cơ quan, cả theo cách thích hợp và kịp thời.

Fig. 7 là hình vẽ giải thích minh họa một ví dụ về bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, và Fig. 8 là hình chiếu cạnh minh họa dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28. Fig. 9 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ về hình dạng phẳng của tế bào hoạt hóa 27, và Fig. 10 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27. Fig. 11 là hình phóng to một phần minh họa một ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27. Các hình vẽ Fig. 9 đến Fig. 11 minh họa hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 được chụp bằng kính hiển vi điện tử 13.

Người phụ trách, sau khi nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 (tế bào mầm hoạt hóa 27) bằng bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng

thái nghỉ, để nuôi cấy liên tục tế bào mầm hoạt hóa 27, nhấn nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, tiếp theo là nhấn nút nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa trên màn hình ban đầu được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị nút so sánh dữ liệu trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách such như bác sĩ, y tá, và nhà nghiên cứu chuẩn bị dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 (dụng cụ nuôi cấy thứ hai), gắn thẻ IC 18 lên bề mặt chu vi ngoài của dụng cụ nuôi cấy 28, và sau đó nhấn nút lưu trữ dữ liệu, và sử dụng thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12, lưu trữ trong thẻ IC 18 của nó dữ liệu của thẻ IC 18 được gắn vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất). Máy vi tính 11 hiển thị thông điệp kết thúc lưu trữ dữ liệu, nút quan sát sự cố định tế bào mầm hoạt hóa, và nút kết thúc sự cố định tế bào mầm trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách nạp (bảo quản) tế bào mầm hoạt hóa 27 trong dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 từ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất), sử dụng bơm hoặc pipet, nạp (bảo quản) dung dịch nuôi cấy 23 trong dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, và nạp (bảo quản) dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 từ dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet. Tỷ lệ nạp dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 là từ 5 đến 15%, tốt hơn là từ 8 đến 12%, tốt hơn nữa là 10%, so với tổng lượng nạp (100%) của dung dịch nuôi cấy 23 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28. Dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 là cùng loại với các dung dịch được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21.

Sau đó, người phụ trách giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 mà tế bào mầm hoạt hóa 27, dung dịch nuôi cấy 23, và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 đã được nạp vào trong đó ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt

độ cơ thể (khoảng 37°C), để dụng cụ này đứng yên trong 36 đến 48 giờ (đứng yên không di chuyển), quan sát sự biến dạng của tế bào mầm hoạt hóa 27 từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy 28 bằng kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ, và xác định rằng tế bào mầm hoạt hóa 27 được cố định vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy 28.

Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 (dụng cụ nuôi cấy thứ hai) được làm bằng thủy tinh trong suốt hoặc nhựa trong suốt, và là dụng cụ chứa dẹt mà hình dạng phẳng của nó là gần như hình chữ nhật thông thường, có dung tích nhỏ và đáy có diện tích định trước, diện tích đáy 29 khoảng gấp hai lần so với dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất). Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 có thể là dụng cụ chứa dẹt mà hình dạng phẳng của nó là tròn hoặc e-líp, có dung tích nhỏ và đáy có diện tích định trước. Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 được sử dụng như phương tiện cố định tế bào mầm hoạt hóa có dung tích khoảng 40 đến 60cc (tốt hơn là 50cc), và diện tích bề mặt đáy khoảng 50 đến 72mm². Dụng cụ nuôi cấy 28 có chiều dài cạnh từ 7 đến 8,5mm.

Người phụ trách nhấn nút quan sát sự cố định tế bào mầm hoạt hóa, và đặt (thiết lập) dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 trong giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13. Miếng đệm 42 được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13 và phần đáy 45 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 để giữ cho phần đáy 45 của dụng cụ nuôi cấy 28 được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đáy 45 của dụng cụ nuôi cấy 28 và phần đỉnh 46 (miệng nạp 47) của dụng cụ nuôi cấy 28 ở các vị trí lần lượt cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy 28 ở góc nghiêng định trước. Ngoài ra, miếng đệm 42 có thể được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13 và phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 để giữ cho phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy 28 được nâng lên bởi miếng đệm 42,

cho phép giữ phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy 28 và phần đáy 45 của dụng cụ nuôi cấy 28 ở các vị trí lần lượt cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy 28 ở góc nghiêng định trước. Góc nghiêng α_2 của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ hai 28 so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 nằm trong khoảng từ 2 đến 5°, tốt hơn là từ 2 đến 3°.

Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy đặt dụng cụ nuôi cấy đợt thứ hai 28 ở một góc nghiêng so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39, nhờ đó cho phép tế bào mầm hoạt hóa 27, dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 trong dụng cụ nuôi cấy 28 nghiêng về phía phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy 28 (hoặc về phía phần đáy 45), khiến cho áp lực nước của tế bào mầm hoạt hóa 27, dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 gia tăng về phía phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy 28 (hoặc về phía phần đáy 45), cho phép tế bào mầm hoạt hóa 27 tập trung về phía phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy 28 (hoặc về phía phần đáy 45), và vì vậy gia tăng hoạt tính của tế bào mầm hoạt hóa 27 để cố định ngay và dễ dàng tế bào mầm hoạt hóa 27 vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy 28.

Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng việc quan sát sự cố định tế bào mầm hoạt hóa đang diễn ra và nút kết thúc cố định tế bào mầm hoạt hóa. Kính hiển vi điện tử 13 chụp hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ hai 28 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ, và truyền hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 đến máy vi tính 11 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khoảng cách thời gian giữa việc chụp hoặc truyền hình ảnh trong kính hiển vi điện tử 13 có thể được cài đặt từ 1 đến 2 giờ bằng linh kiện đầu vào như bàn phím 14 và con chuột 15.

Máy vi tính 11 lưu trữ hình ảnh phóng to về hình dạng đợt của tế bào mầm hoạt hóa 27 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian

chụp trong vùng lưu trữ để kết hợp với nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm. Máy vi tính 11 hiển thị ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trên bộ hiển thị 17. Người phụ trách xác nhận (nhận biết bằng mắt thường) hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ, và quan sát các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27. Người phụ trách có thể quan sát trực tiếp các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 từ cửa sổ quan sát của kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ.

Hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm hoạt hóa 27 (hình dạng phẳng trước khi cố định) là hình dạng gần như tròn, và hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 là hình dạng gần như tròn, tế bào mầm hoạt hóa 27 không được cố định vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 (bề mặt trong của thành đáy), không cho phép tế bào mầm hoạt hóa 27 bắt đầu tăng sinh (biệt hóa). Hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 bị biến dạng (hình dạng phẳng sau khi được cố định) chủ yếu là hình dạng gần như tròn trước khi được cố định, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm ở hoạt hóa 27 kéo dài (giãn ra) ở dạng vô định hình theo một chiều (chiều định trước), nhờ đó cố định tế bào mầm hoạt hóa 27 vào đáy 28 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 (bề mặt trong của thành đáy) và cho phép tế bào mầm hoạt hóa 27 bắt đầu tăng sinh (hoạt hóa).

Người phụ trách, theo quan sát ở bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, được minh họa trên Fig. 8, khi hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 giữ nguyên hình dạng gần như tròn như đã quan sát thấy, xác định rằng tế bào mầm hoạt hóa 27 không được cố định vào đáy 29 của dụng cụ nuôi

cây dẹt thứ hai 28 (bề mặt trong của thành đáy), và liên tục quan sát các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Người phụ trách, như được minh họa trên Fig. 9, khi hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 bị biến dạng từ gần như tròn đến chủ yếu gần như tròn và hình dạng dẹt vô định hình, xác định rằng tế bào mầm hoạt hóa 27 đã được cố định vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cây dẹt thứ hai 28.

Việc sử dụng dụng cụ nuôi cây lớn trong đó dung tích vượt quá 60cc và diện tích bề mặt đáy vượt quá 72mm^2 khi tế bào mầm hoạt hóa 27 được cố định không dễ dàng cố định được tế bào hoạt hóa 27 vào bề mặt đáy của dụng cụ chứa và làm chậm sự tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa 27, nhưng phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy, sử dụng dụng cụ nuôi cây dẹt thứ hai 28 có dung tích và diện tích bề mặt đáy, có thể dễ dàng cố định tế bào mầm hoạt hóa 27 vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy 28 và tăng sinh ngay tế bào mầm hoạt hóa 27 trong dụng cụ nuôi cấy 28. Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy cho phép dụng cụ nuôi cây dẹt thứ hai 28 đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể trong khoảng thời gian 36 đến 48 giờ, và quan sát sự biến dạng của tế bào mầm hoạt hóa 27 từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy 28 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ, nhờ đó luôn khẳng định được sự biến dạng của tế bào mầm hoạt hóa 27 và xác nhận chính xác sự cố định tế bào mầm hoạt hóa 27 vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy 28.

Theo quan sát ở bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, như được minh họa trên Fig. 9, loại tế bào mầm trung mô hoạt hóa 27 bị biến dạng từ gần như tròn (hình dạng phẳng ban đầu) đến chủ yếu gần như tròn và hình dạng dẹt vô định hình, và tiếp sau bước xác nhận sự cố định tế bào mầm hoạt hóa 27 vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 28 là bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa. Người phụ trách như bác sĩ, y tá,

và nhà nghiên cứu, sau khi xác nhận sự cố định của tế bào mầm hoạt hóa 27 vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ hai 28, nhấn nút kết thúc cố định tế bào mầm hoạt hóa được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút kết thúc cố định tế bào mầm hoạt hóa được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị thông điệp kết thúc cố định tế bào mầm hoạt hóa, nút quan sát nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, và nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách xả dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 gồm dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ hai 28 khỏi dụng cụ nuôi cấy 28 ở bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, và nạp (bảo quản) dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 (dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được tạo ra trong quá trình nuôi cấy tế bào mầm 30 làm thành phần của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22) vào dụng cụ nuôi cấy 28. Tỷ lệ nạp dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ hai 28 là từ 5 đến 15%, tốt hơn là từ 8 đến 12%, tốt hơn nữa là 10%, so với tổng lượng nạp (100%) của dung dịch nuôi cấy 23 mới được nạp vào dụng cụ nuôi cấy 28.

Người phụ trách lấy dụng cụ nuôi cấy đợt thứ hai 28 ra khỏi giá giữ mẫu của kính hiển vi điện tử 16, và xả dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 gồm dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy 28 từ dụng cụ nuôi cấy 28 ở bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, và nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy 28, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, và nạp (bảo quản) dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 vào dụng cụ nuôi cấy 28 từ dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet. Dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 là cùng loại với các dung dịch được nạp vào dụng

cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 ở bước cố định tế bào mầm hoạt hóa.

Người phụ trách giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể (khoảng 37°C), để nó đứng yên trong 36 đến 48 giờ (đứng yên không di chuyển), quan sát tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 được cố định vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy 28 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 28 bằng kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 có đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ hai) của diện tích bề mặt đáy của của dụng cụ nuôi cấy 28 hay không. Tỷ lệ đích của tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 là từ 88 đến 92% (88 đến 92% hợp đồng) diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28.

Người phụ trách, sau khi nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28, nhấn nút quan sát nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, và đặt (thiết lập) dụng cụ nuôi cấy 28 vào giá giữ mẫu của kính hiển vi điện tử 13. Miếng đệm 42 được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 16 và phần đáy 45 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 để giữ cho phần đáy 45 của dụng cụ nuôi cấy 28 được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đáy 45 của dụng cụ nuôi cấy 28 và phần đỉnh 46 (miệng nạp 47) của dụng cụ nuôi cấy 28 ở các vị trí lần lượt cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy 28 ở góc nghiêng định trước (xem Fig.8). Ngoài ra, miếng đệm 42 có thể được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 16 và phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 28 để giữ cho phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy 28 được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy 28 và phần đáy 45 của dụng cụ nuôi cấy 28 ở các vị trí lần lượt cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy 28 ở góc nghiêng định trước. Góc nghiêng α_2 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 so với

bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 nằm trong khoảng từ 2 đến 5°, tốt hơn là từ 2 đến 3°.

Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy, sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm hoạt hóa 27, xả dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 trong dụng cụ nuôi cấy 28 và nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 vào dụng cụ nuôi cấy 28, nhờ đó thúc đẩy chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa 27. Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy đặt dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 ở một góc nghiêng so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39, nhờ đó cho phép tế bào mầm hoạt hóa 27, dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 trong dụng cụ nuôi cấy 28 nghiêng về phía phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy 28 (hoặc về phía phần đáy 45), khiến cho áp lực nước của tế bào mầm hoạt hóa 27, dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 gia tăng về phía phần đỉnh 46 của dụng cụ nuôi cấy 28 (hoặc về phía phần đáy 45), cho phép tế bào mầm hoạt hóa 27 tập trung về phía phần đáy 45 của dụng cụ nuôi cấy 28 (hoặc về phía phần đỉnh 46), và vì vậy gia tăng (biệt hóa) hoạt tính của tế bào mầm hoạt hóa 27 để cố định ngay và dễ dàng tế bào mầm hoạt hóa 27 vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy 27.

Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng việc quan sát sự nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa đang diễn ra và nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa. Người phụ trách, sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm hoạt hóa 27, tháo dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 gồm dung dịch nuôi cấy 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 khỏi dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28, nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới 24 chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm đơn 30 vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28, và chất chuyển hóa của tế bào mầm 30 của nó gây ra sự hoạt hóa ngay tế bào mầm hoạt hóa 27 để thúc đẩy chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa 27.

Kính hiển vi điện tử 13 chụp hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 trong dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ, và truyền hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 đến máy vi tính 11 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khoảng cách thời gian giữa việc chụp hoặc truyền hình ảnh trong kính hiển vi điện tử 13 có thể được cài đặt từ 1 đến 2 giờ bằng linh kiện đầu vào như bàn phím 14 và con chuột 15. Máy vi tính 11 lưu trữ hình ảnh phóng to về hình dạng dẹt của tế bào mầm hoạt hóa 27 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trong vùng lưu trữ để kết hợp với nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm. Máy vi tính 11 hiển thị ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách xác nhận (nhận biết bằng mắt thường) hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa 27 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và quan sát tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 được cố định vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 28, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 có đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ hai) (88 đến 92% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 28 hay không. Người phụ trách có thể quan sát trực tiếp tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 từ cửa sổ quan sát của kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 có đạt tỷ lệ đích (88 đến 92% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 28 hay không.

Người phụ trách, theo quan sát ở bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt

hóa, được minh họa trên Fig. 9, khi tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 không đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ hai) (88 đến 92% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28, liên tục quan sát tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 28 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khi tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ hai) của tổng diện tích của hình ảnh phóng to được hiển thị trên bộ hiển thị 17, tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 được xác định là đạt tỷ lệ đích của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28.

Theo quan sát ở bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, tế bào mầm hoạt hóa 27 được tăng sinh trên đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 (bề mặt trong của thành đáy) để cho phép tế bào mầm hoạt hóa 27 tạo thành khuẩn lạc và hình dạng phẳng của nó giãn ra, và như được minh họa trên Fig. 10, khi tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ hai) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy 28 (88 đến 92% hợp dòng), tế bào mầm hoạt hóa 27 được tăng sinh và hoạt hóa tiếp. Khi tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 đạt tỷ lệ đích của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28, tế bào mầm hoạt hóa 27 được chiết từ dụng cụ nuôi cấy 28 và tế bào mầm hoạt hóa 27 được chiết như vậy được sử dụng để điều trị từng loại bệnh hoặc thuốc tái tạo.

Người phụ trách xả dung dịch nuôi cấy hỗn hợp 26 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 từ dụng cụ nuôi cấy 28, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, và sau khi rửa dụng cụ nuôi cấy 28 bằng PBS, nạp dung dịch trypsin vào dụng cụ nuôi cấy 28. Khi dung dịch trypsin được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28, tế bào mầm hoạt hóa 27 được cố định vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy 28 bong ra khỏi đáy 29 nhờ dung dịch trypsin, nổi lên bề mặt của dung dịch trypsin. Người phụ

trách hút tế bào mầm hoạt hóa 27 bằng pipet, và bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 trong pipet. Người phụ trách có thể bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 được nuôi cấy ở bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa trong dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19, dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 mà bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14, và bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14.

Người phụ trách, sau khi xác nhận rằng tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa 27 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ hai) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28, nhấn nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị màn hình ban đầu trên bộ hiển thị 17. Khi quy trình nuôi cấy hoàn tất, nút đăng xuất trên màn hình ban đầu được nhấn. Khi nút đăng xuất được nhấn, máy vi tính 11 thoát ra khỏi hệ thống 10.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, bằng cách sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ tế bào mầm 30 của nó được tạo ra trong quá trình nuôi cấy (tăng sinh) loại tế bào mầm trung mô đơn 30 trước khi bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 (tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22), cho phép chất chuyển hóa của tế bào mầm 30 của nó gây ra sự hoạt hóa ngay tế bào mầm hoạt hóa 27 để thúc đẩy sự cố định và tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa 27 vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 (dụng cụ nuôi cấy thứ hai), và duy trì hoạt tính của tế bào mầm hoạt hóa 27 và tăng sinh ngay tế bào mầm hoạt hóa 27.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa, bằng cách sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được tạo ra trong quá trình nuôi cấy (tăng sinh) loại tế bào mầm trung mô 30 đơn trước khi bảo quản tế bào mầm hoạt hóa 27 (tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22), cố định tế bào mầm hoạt hóa 27 vào đáy 29 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 (dụng cụ

nuôi cấy thứ hai), và sử dụng dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 của nó, tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa 27 đến khi đạt tổng diện tích đạt tỷ lệ đích thứ hai, nhờ đó cho phép cố định và tăng sinh hiệu quả chắc chắn loại tế bào mầm trung mô hoạt hóa đơn 27, và tạo ra một cách hiệu quả loại tế bào mầm trung mô hoạt hóa đơn 27 có đủ hoạt tính với khối lượng cần thiết.

Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa có thể tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa thuần khiết (sạch) không chứa tế bào mầm không mong muốn bằng cách đưa loại tế bào mầm trung mô hoạt hóa 27 qua các bước cố định tế bào mầm hoạt hóa và nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, và không chứa các loại tế bào mầm khác nhau không, nhờ đó cho phép tạo ra tế bào mầm hoạt hóa 27 có tác dụng đáng kể trong điều trị từng loại bệnh và thuốc tái tạo, và tạo ra tế bào mầm hoạt hóa 27 để điều trị từng loại bệnh và để tái tạo từng loại mô và cơ quan, cả theo cách thích hợp và kịp thời.

Fig. 12 là hình phối cảnh minh họa ống nghiệm thủy tinh 32 được sử dụng ở bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất, và Fig. 13 là hình vẽ giải thích minh họa bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất sau bước trên Fig. 12. Fig. 14 là hình vẽ giải thích minh họa bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất sau bước trên Fig. 13. Tham chiếu đến các hình vẽ từ Fig. 12 đến Fig. 22, phương pháp tạo ra loại tế bào mầm trung mô đơn 30 làm thành phần của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ 22 sẽ được mô tả.

Sử dụng dịch tủy xương thô 31 thu được từ nhiều đối tượng cho (người), loại tế bào mầm đơn 30 được chuẩn bị bằng hệ thống nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa 10, nhờ bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất, bước nuôi cấy tế bào mầm thứ nhất, bước cố định tế bào mầm thứ hai, và bước nuôi cấy tế bào mầm thứ hai. Hệ thống 10 được kết cấu để nuôi cấy loại tế bào mầm trung mô đơn và cụ thể 38 (tế bào mầm thứ nhất)

trong số nhiều loại tế bào mầm trung mô chứa trong dịch tủy xương thô 31.

Bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất đầu tiên tách dịch tủy xương thô 31 thu được từ đối tượng cho thành các lớp. Ở bước thu hồi dịch tủy xương, 2 đến 3cc (2 đến 3ml) dịch tủy xương thô 31 được thu hồi từ xương ức hoặc xương chậu (khung xương chậu) của người cho. Sau khi gây tê cục bộ trên người cho, dịch tủy xương thô 31 được thu hồi bằng cách “chọc tủy xương” (nghĩa là “MARK”, có nguồn gốc từ tiếng Đức, “Knochenmark”, có nghĩa là tủy xương) để chọc tủy xương và hút dịch tủy xương (máu tủy xương). Người phụ trách như bác sĩ, y tá, và nhà nghiên cứu, khi thu dịch tủy xương thô 31, kích hoạt hệ thống 10 trên máy vi tính 11, và nhấn nút nuôi cấy tế bào mầm trên màn hình ban đầu. Bộ hiển thị 17 hiển thị nút nhập dữ liệu và nút đăng xuất.

Người phụ trách nhấn nút nhập dữ liệu, và sau đó nhập dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào mầm vào máy vi tính 11, bằng cách sử dụng linh kiện đầu vào như bàn phím 14 và con chuột 15. Máy vi tính 11 tạo ra nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm độc nhất để nhận dạng từng người cho, dữ liệu người cho mỗi lần và dữ liệu tế bào mầm được nhập vào (dịch tủy xương thô được thu thập từ người cho), và lưu trữ dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào mầm trong vùng lưu trữ để kết hợp với nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm. Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp nhập dữ liệu người cho, nút lưu trữ dữ liệu và nút đăng xuất.

2 đến 3cc dịch tủy xương thô 31 thu được từ người cho, như được minh họa trên Fig. 12, được nạp (bảo quản) vào ống nghiệm thủy tinh đặt thẳng đứng theo chiều dọc 32 (dụng cụ phân tách). 2 đến 3cc dịch tủy xương thô 31 chứa 0,5 đến 1ml (khoảng 5×10^7 (tế bào/ml)) nhiều loại tế bào mầm trung mô.

Gắn thẻ IC 18 lên bề mặt chu vi ngoài của ống nghiệm thủy tinh

32 để nạp dịch tủy xương thô 31. Người phụ trách, sử dụng thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12, ghi dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào mầm lên thẻ IC 18 của ống nghiệm thủy tinh 32. Khi dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào được ghi lên thẻ IC 18, máy vi tính 11 hiển thị thông điệp kết thúc lưu trữ dữ liệu, nút tách dịch tủy xương, và nút đăng xuất trên bộ hiển thị 17.

Ống nghiệm thủy tinh 32 mà dịch tủy xương thô 31 được nạp vào đó, như được minh họa trên Fig. 13, được đặt trong giá để ống nghiệm 33, và bảo quản trong bể có nhiệt độ không đổi 34 cùng với giá để ống nghiệm 33. Những người phụ trách, sau khi nhấp chuột vào nút phân tách dịch tủy xương được hiển thị trên bộ hiển thị 17, nạp dịch tủy xương 31 vào ống nghiệm thủy tinh 32 từ dụng bơm, và lồng (đặt) ống nghiệm thủy tinh 32 mà trong đó dịch tủy xương thô 31 được nạp vào giá để ống nghiệm 33. Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng quá trình tách dịch tủy xương đang diễn ra và nút kết thúc tách dịch tủy xương.

Người phụ trách bảo quản giá để ống nghiệm 33 trong bể có nhiệt độ không đổi 34, và để ống nghiệm thủy tinh 32 mà dịch tủy xương thô 31 đã được nạp vào đó đứng yên trong bể có nhiệt độ không đổi 34 trong khoảng thời gian định trước (khoảng 2 giờ) (đứng yên không dịch chuyển). Nhiệt độ trong bể có nhiệt độ không đổi 34 được duy trì ở khoảng nhiệt độ gần bằng nhiệt độ cơ thể khoảng 37°C. Bằng cách để cho ống nghiệm thủy tinh 32 đứng yên trong bể có nhiệt độ không đổi 34 trong khoảng thời gian định trước (khoảng 2 giờ), như được minh họa trên Fig. 14, dịch tủy xương thô 31 được nạp vào ống nghiệm 32 được tách thành các lớp theo chiều thẳng đứng trong ống nghiệm 32 (được tách thành 3 lớp như trong Fig. 14).

Tiếp theo bước tách dịch tủy xương 31 thành các lớp là bước chiết dịch tủy xương. Ở bước chiết dịch tủy xương, dịch tủy xương lớp trung gian 35 được chiết từ dịch tủy xương 31 đã tách thành các lớp.

Người phụ trách lấy giá để ống nghiệm 33 ra khỏi bể có nhiệt độ không đổi 34, rút ống nghiệm thủy tinh 32 khỏi giá để ống nghiệm 33, xác nhận việc tách dịch tủy xương thô 31 thành các lớp và chiết dịch tủy xương lớp trung gian 35 có trong lớp cụ thể của dịch tủy xương 31 đã tách thành các lớp.

Người phụ trách hút dịch tủy xương lớp trung gian 35, dày 3 đến 4mm, nằm ở lớp trung gian khỏi dịch tủy xương thô 31 đã tách thành các lớp, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet. Người phụ trách, sau khi tách dịch tủy xương thô 31 chứa nhiều loại các tế bào mầm trung mô thành các lớp theo chiều thẳng đứng, chiết dịch tủy xương lớp trung gian 35 cụ thể từ dịch tủy xương thô 31, nhờ đó cho phép loại bỏ tế bào mầm trung mô không mong muốn chứa trong dịch tủy xương thô 31.

Sau khi dịch tủy xương lớp trung gian 35 is được chiết, nhấn nút kết thúc tách dịch tủy xương. Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp kết thúc tách dịch tủy xương và nút lưu trữ dữ liệu. Người phụ trách chuẩn bị dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (dụng cụ nuôi cấy thứ ba) (không được thể hiện), gắn thẻ IC lên bề mặt chu vi ngoài của dụng cụ nuôi cấy, sau đó nhấn nút lưu trữ dữ liệu, và sử dụng thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12, lưu trữ dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào mầm của thẻ IC 18 được gắn vào ống nghiệm thủy tinh 32. Máy vi tính 11 hiển thị thông điệp kết thúc lưu trữ dữ liệu, nút quan sát việc cố định tế bào mầm lần thứ nhất, và nút kết thúc cố định tế bào mầm lần thứ nhất trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách, sau khi chiết dịch tủy xương lớp trung gian cụ thể 35 nằm ở lớp trung gian ra khỏi dịch tủy xương thô 31, nạp (bảo quản) dịch tủy xương lớp trung gian 35 và dung dịch nuôi cấy 23 vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (dụng cụ nuôi cấy thứ ba), bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, giữ dụng cụ nuôi cấy ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể khoảng 37°C, để cho dụng cụ chứa này đứng yên trong 12 đến 24 giờ (đứng yên không dịch chuyển), quan sát sự biến dạng tế

bào mầm trung mô 38 (tế bào mầm thứ nhất) chứa trong dịch tủy xương lớp trung gian 35 trong dụng cụ nuôi cấy từ hình dạng phẳng ban đầu với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng từ 12 đến 24 giờ, và xác định xem tế bào mầm 36 có được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy hay không.

Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba được sử dụng ở bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất và bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất là cùng loại (về hình dạng và kích thước) như dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất) được sử dụng ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ và bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ (xem Fig. 2). Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba có dung tích khoảng 20 đến 30cc (tốt hơn là 25cc), và diện tích bề mặt đáy của khoảng 25 đến 36mm². Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba có chiều dài cạnh từ 5 đến 6mm.

Fig. 15 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38. Fig. 16 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38, và Fig. 17 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38. Các hình vẽ Từ Fig. 15 đến Fig.17 minh họa hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 được chụp bằng kính hiển vi điện tử 13.

Người phụ trách nhấn nút quan sát sự cố định lần thứ nhất, và thiết lập (đặt) dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba trong giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13. Miếng đệm 42 được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13 và phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba để giữ cho phần đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba và phần đỉnh (miệng nạp) của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba lần lượt ở các vị trí cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba ở một góc nghiêng định trước (xem Fig. 3). Ngoài ra, miếng

đệm 42 có thể được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13 và phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba để giữ cho phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba và phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba lần lượt ở các vị trí cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba ở góc nghiêng định trước. Góc nghiêng α_1 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 nằm trong khoảng từ 2 đến 5°, tốt hơn là từ 2 đến 3°.

Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy đặt dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba ở một góc nghiêng so với bề mặt trên 40 giá giữ mẫu 39, nhờ đó cho phép tế bào mầm 38 và dung dịch nuôi cấy 23 trong dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba nghiêng về phía phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (hoặc về phía phần đáy), làm cho áp lực nước của tế bào mầm 38 và dung dịch nuôi cấy 23 tăng về phía phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (hoặc về phía phần đáy), cho phép tế bào mầm 38 tập trung về phía phần đỉnh (hoặc về phía phần đáy) của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba, và do đó tăng hoạt tính của các tế bào mầm 38 để cố định ngay và dễ dàng tế bào mầm 38 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba.

Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng việc quan sát sự cố định tế bào mầm lần thứ nhất đang diễn ra và nút kết thúc cố định tế bào mầm lần thứ nhất. Kính hiển vi điện tử 13 chụp hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 chứa trong dịch tủy xương lớp trung gian 35 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ, và truyền hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 đến máy vi tính 11 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ.

Khoảng cách thời gian giữa việc chụp hoặc truyền hình ảnh trong

kính hiển vi điện tử 13 có thể được cài đặt từ 1 đến 2 giờ bằng linh kiện đầu vào như bàn phím 14 và con chuột 15. Tế bào mầm trung mô 38 (tế bào mầm thứ nhất) được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy theo thời gian, được nuôi cấy bằng dung dịch nuôi cấy, và tăng sinh (biệt hóa) dần trên đáy dụng cụ nuôi cấy để tạo thành khuẩn lạc.

Máy vi tính 11 lưu trữ hình ảnh phóng to về hình dạng dẹt của tế bào mầm trung mô 38 (tế bào mầm thứ nhất) được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trong vùng lưu trữ để kết hợp với nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm. Máy vi tính 11 hiển thị ảnh phóng to về dạng phẳng của tế bào mầm 38 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trên bộ hiển thị 17. Người phụ trách xác nhận (nhận biết bằng mắt thường) hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ, và quan sát các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38. Người phụ trách có thể quan sát trực tiếp các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 từ cửa sổ quan sát của kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ.

Hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) là hình dạng gần như tròn, và khi hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 là hình dạng gần như tròn, tế bào mầm 38 không được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (bề mặt trong của thành đáy), điều này không cho phép tế bào mầm 38 bắt đầu tăng sinh (biệt hóa). Hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) bị biến dạng (hình dạng phẳng sau khi được cố định) chủ yếu là hình dạng gần như tròn trước khi cố định, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm 38 kéo dài (giãn ra) theo hình dạng vô định hình theo một chiều (chiều định trước), nhờ đó cố định tế bào mầm 38 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy 38 (bề mặt trong

của thành đáy) và cho phép tế bào mầm 38 bắt đầu tăng sinh (hoạt hóa).

Những người phụ trách, theo quan sát ở bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất, như được minh họa trên Fig. 15, khi hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) được hiển thị trên bộ hiển thị 17 chỉ được quan sát thấy dưới hình dạng gần như tròn, xác định rằng tế bào mầm 38 không được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (bề mặt trong của thành đáy), và liên tục quan sát các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Người phụ trách, như được minh họa trên Fig. 16, khi hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) được hiển thị trên bộ hiển thị 17 bị biến dạng từ gần như tròn đến chủ yếu gần như tròn và hình dạng dẹt vô định hình, xác định rằng tế bào mầm 38 được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy.

Việc sử dụng dụng cụ nuôi cấy lớn trong đó dung tích vượt quá 30cc và diện tích bề mặt đáy vượt quá 36mm² khi tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) được cố định không dễ dàng cố định được tế bào mầm 38 vào bề mặt đáy của dụng cụ chứa và làm chậm sự tăng sinh tế bào mầm 38, nhưng phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy, sử dụng dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba có dung tích và diện tích bề mặt đáy như của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ nhất 21 có thể dễ dàng cố định tế bào mầm 38 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy và tăng sinh ngay tế bào mầm 38 trong dụng cụ nuôi cấy. Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy cho phép dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể trong khoảng 12 đến 24 giờ, và quan sát sự biến dạng của tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 12 đến 24 giờ, nhờ đó luôn khẳng định được sự biến dạng của tế bào mầm 38 và khẳng định chính xác sự cố định tế bào mầm 38 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba.

Theo quan sát ở bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất, tế bào mầm trung mô 38 (tế bào mầm thứ nhất) bị biến dạng từ gần như tròn (hình dạng phẳng ban đầu) đến chủ yếu gần như tròn và hình dạng dẹt vô định hình, và sau bước xác nhận sự cố định tế bào mầm 38 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba là bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất. Người phụ trách như bác sĩ, y tá, và nhà nghiên cứu, sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm 38 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba, nhấn nút kết thúc cố định lần thứ nhất được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút kết thúc cố định lần thứ nhất được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị thông điệp kết thúc cố định tế bào mầm lần thứ nhất, nút quan sát nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất, và nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách xả dung dịch nuôi cấy 23 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba từ dụng cụ nuôi cấy ở bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất, và nạp (bảo quản) dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy. Người phụ trách lấy dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba ra khỏi giá giữ mẫu của kính hiển vi điện tử 16, và xả dung dịch nuôi cấy 23 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy ở bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất khỏi dụng cụ nuôi cấy, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, và nạp (bảo quản) dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet.

Người phụ trách giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể (khoảng 37°C), để cho dụng cụ này đứng yên trong 36 đến 48 giờ (đứng yên không dịch chuyển), quan sát tổng diện tích của tế bào mầm 38 được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba bằng kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm 38 có đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ ba) của diện tích bề mặt đáy của

dụng cụ nuôi cấy hay không. Tỷ lệ đích thứ ba của tổng diện tích của tế bào mầm 38 là từ 70 đến 80% (70 đến 80% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy.

Người phụ trách, sau khi nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy, nhấn nút quan sát nuôi cấy lần thứ nhất, và đặt (thiết lập) dụng cụ nuôi cấy trong giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13. Miếng đệm 42 được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 16 và phần đáy của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba để giữ cho phần đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đáy của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba và phần đỉnh (miệng nạp) của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba lần lượt ở các vị trí cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba ở một góc nghiêng định trước (xem Fig. 3). Ngoài ra, miếng đệm 42 có thể được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 16 và phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba để giữ cho phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba và phần đáy của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba lần lượt ở các vị trí cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba ở góc nghiêng định trước. Góc nghiêng α_1 của dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 nằm trong khoảng từ 2 đến 5°, tốt hơn là từ 2 đến 3°.

Sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm 38, phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy, xả dung dịch nuôi cấy 23 trong dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba và nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba, nhờ đó thúc đẩy chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm 38. Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy đặt dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba ở một góc nghiêng so với bề mặt trên 40 giá giữ mẫu 39, nhờ đó cho phép tế bào mầm 38 và dung dịch nuôi cấy 23 trong dụng cụ nuôi cấy đợt thứ ba nghiêng về phía phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy đợt

thứ ba (hoặc về phía phần đáy 41), làm cho áp lực nước của tế bào mầm 38 và dung dịch nuôi cấy 23 tăng về phía phần đỉnh 43 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (hoặc về phía phần đáy 41), cho phép tế bào mầm 38 tập trung về phía phần đáy 41 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (hoặc về phía phần đỉnh 43), và do đó tăng hoạt tính của các tế bào mầm 38 để cố định ngay và dễ dàng tế bào mầm 38 vào đáy 25 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba.

Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng việc quan sát sự nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất đang diễn ra và nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất. Người phụ trách, sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm, xả dung dịch nuôi cấy 23 khỏi dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba, và nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy để thúc đẩy chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm 38.

Kính hiển vi điện tử 13 chụp hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ, và truyền hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 đến máy vi tính 11 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khoảng cách thời gian giữa việc chụp hoặc truyền hình ảnh trong kính hiển vi điện tử 13 có thể được cài đặt từ 1 đến 2 giờ bằng linh kiện đầu vào như bàn phím 14 và con chuột 15. Máy vi tính 11 lưu trữ hình ảnh phóng to về hình dạng dẹt của tế bào mầm 38 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trong vùng lưu trữ để kết hợp với nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm. Máy vi tính 11 hiển thị ảnh phóng to về dạng phẳng của tế bào mầm 38 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách xác nhận (bằng mắt thường) hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 38 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong 36 đến 48 giờ, và quan sát tổng diện tích của tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) được

cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm 38 có đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ ba) (70 đến 80% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy hay không. Người phụ trách có thể quan sát trực tiếp tổng diện tích của tế bào mầm 38 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy từ cửa sổ quan sát của kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm 38 có đạt tỷ lệ đích (70 đến 80% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy hay không.

Người phụ trách, theo quan sát ở bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất, như được minh họa trên Fig. 16, khi tổng diện tích của tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) được hiển thị trên bộ hiển thị 17 không đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ ba) (70 đến 80% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba, liên tục quan sát tổng diện tích của tế bào mầm 38 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khi tổng diện tích của tế bào mầm 38 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ ba) của tổng diện tích của hình ảnh phóng to được hiển thị trên bộ hiển thị 17, tổng diện tích của tế bào mầm 38 được xác định là đạt tỷ lệ đích của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba.

Theo quan sát ở bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất, như được minh họa trên Fig. 17, tế bào mầm 38 được tăng sinh trên đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (bề mặt trong của thành đáy) để cho phép tế bào mầm tạo thành khuẩn lạc và hình dạng phẳng của nó giãn ra, và khi tổng diện tích của tế bào mầm 38 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ ba) (70 đến 80% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy, tế bào mầm trung mô 38 được tăng sinh (biệt hóa) từ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba được chiết.

Người phụ trách, sau khi xác nhận rằng tổng diện tích của tế bào mầm trung mô 38 (tế bào mầm trung mô thứ nhất) đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ ba) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba, thực hiện bước cố định tế bào mầm lần thứ hai. Người phụ trách, sau khi xác nhận rằng tổng diện tích của tế bào mầm trung mô 38 (tế bào mầm trung mô thứ nhất) đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ ba) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba, nhấn nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất và nút kết thúc việc chiết tế bào mầm lần thứ nhất trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách xả dung dịch nuôi cấy 23 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba khỏi dụng cụ nuôi cấy, và sau khi rửa dụng cụ nuôi cấy bằng PBS, nạp dung dịch trypsin vào dụng cụ nuôi cấy. Khi dung dịch trypsin được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba, tế bào mầm trung mô 38 (tế bào mầm thứ nhất) được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy bong khỏi đáy nhờ dung dịch trypsin, nổi lên bề mặt của dung dịch trypsin. Người phụ trách hút tế bào 38 bằng pipet, và bảo quản tế bào mầm 38 trong pipet.

Fig. 18 là hình phối cảnh minh họa ống nghiệm thủy tinh 36 và thiết bị tách bằng ly tâm 37 được sử dụng ở bước cố định tế bào mầm lần thứ hai, và Fig. 19 là hình phối cảnh minh họa ống nghiệm thủy tinh 36 sau khi tách bằng ly tâm. Sau bước chiết tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) từ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba là bước cố định tế bào mầm lần thứ hai. Ở bước cố định tế bào mầm lần thứ hai, tế bào mầm 38 được chiết được tách bằng ly tâm thành các lớp bằng thiết bị tách ly tâm 37. Người phụ trách như bác sỹ, y tá và nhà nghiên cứu, sau khi hút tế bào mầm 38 khỏi dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba vào pipet, nhấn nút kết thúc việc chiết tế bào mầm lần thứ nhất được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Bộ

hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng việc tách tế bào mầm đang diễn ra và nút kết thúc việc tách tế bào mầm.

Người phụ trách nạp (bảo quản) tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) trong pipet vào ống nghiệm thủy tinh 36 của nó, và đặt (thiết lập) ống nghiệm thủy tinh 36 trong thiết bị tách ly tâm 37. Người phụ trách, sau khi tách ly tâm tế bào mầm 38 trong khoảng thời gian định trước bằng thiết bị tách ly tâm 37, lấy ống nghiệm thủy tinh 36 ra khỏi thiết bị tách ly tâm 37. Tế bào mầm 38 trong ống nghiệm thủy tinh 36 được tách thành các lớp theo chiều thẳng đứng bằng thiết bị tách ly tâm 37.

Sau khi tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) được tách thành các lớp, tế bào mầm trung mô 30 (tế bào mầm thứ hai) nằm ở lớp thấp hơn (lớp thấp nhất) của tế bào mầm 38 được tách thành các lớp được chiết. Tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) chứa tế bào mầm không mong muốn được tách ly tâm bằng thiết bị tách ly tâm 37 cần được tách thành các lớp theo chiều thẳng đứng, và tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) nằm ở lớp thấp nhất của tế bào mầm 38 được tách ly tâm thành các lớp được chiết, nhờ đó chắc chắn chiết tế bào mầm cụ thể 30 khỏi tế bào mầm 38 và loại bỏ tế bào mầm không mong muốn khỏi tế bào mầm 38.

Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy làm giảm dần hoạt tính của tế bào mầm 38 khi tổng diện tích của tế bào mầm 38 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba (dụng cụ nuôi cấy thứ ba) vượt quá 80% để tăng sinh tế bào mầm 38, và chiết tế bào mầm 38 khỏi dụng cụ nuôi cấy khi tổng diện tích của tế bào mầm 38 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy tăng đến 70 đến 80% để tăng sinh, nhờ đó duy trì hoạt tính của tế bào mầm 38, theo đó tăng sinh tế bào mầm 38, và chiết tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) có hoạt tính từ tế bào mầm 38.

Người phụ trách, sau khi tách tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ

nhất) thành các lớp bằng thiết bị tách ly tâm 37, lấy ống nghiệm thủy tinh 36 ra khỏi thiết bị tách ly tâm 37, và nhấn nút kết thúc việc tách tế bào mầm được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp kết thúc việc tách tế bào mầm và nút lưu trữ dữ liệu. Người phụ trách chuẩn bị dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (dụng cụ nuôi cấy thứ tư) (không được thể hiện), gắn thẻ IC 18 lên bề mặt chu vi ngoài của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư, sau đó nhấn nút nút lưu trữ dữ liệu, và sử dụng thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12, lưu vào thẻ IC của nó dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào mầm của thẻ IC được gắn vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ ba. Máy vi tính 11 hiển thị thông điệp kết thúc lưu trữ dữ liệu, nút quan sát việc cố định tế bào mầm lần thứ hai, và nút kết thúc cố định tế bào mầm lần thứ hai trên bộ hiển thị 17.

Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư được sử dụng ở bước cố định tế bào mầm lần thứ hai và bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai là cùng loại (về hình dạng và kích thước) như dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ hai 28 (dụng cụ nuôi cấy thứ hai) được sử dụng ở bước cố định tế bào mầm hoạt hóa và bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa (xem Fig. 6). Dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư có dung tích khoảng 40 đến 60cc (tốt hơn là 50cc), và diện tích bề mặt đáy của khoảng 50 đến 72mm². Dụng cụ nuôi cấy 28 có chiều dài cạnh từ 7 đến 8,5mm.

Fig. 20 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai). Fig. 21 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai). Fig. 22 là hình phóng to một phần minh họa ví dụ khác về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai). Các hình vẽ từ Fig. 20 đến Fig.22 minh họa hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 được (tế bào mầm thứ hai) chụp bằng kính hiển vi điện tử 13.

Người phụ trách như bác sĩ, y tá và nhà nghiên cứu, sau khi chiết

tế bào mầm trung mô 30 (tế bào mầm thứ hai) có trong lớp thấp hơn (lớp thấp nhất) của tế bào mầm 38 (tế bào mầm thứ nhất) được tách thành các lớp trong ống nghiệm thủy tinh 36, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, sau đó nạp (bảo quản) tế bào mầm 30 của nó và dung dịch nuôi cấy 23 vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (dụng cụ nuôi cấy thứ tư), giữ dụng cụ nuôi cấy ở cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể (khoảng 37°C), để dụng cụ này đứng yên trong 36 đến 48 giờ (đứng yên không dịch chuyển), quan sát sự biến dạng tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) trong dụng cụ nuôi cấy từ hình dạng phẳng ban đầu bằng kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và xác định xem tế bào mầm 30 có được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy hay không.

Người phụ trách nhấn nút quan sát cố định tế bào mầm lần thứ hai, và đặt (thiết lập) dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư trong giá giữ mẫu của kính hiển vi điện tử 13. Miếng đệm 42 được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13 và phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư để giữ cho phần đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư và phần đỉnh (miệng nạp) của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư lần lượt ở các vị trí cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư ở một góc nghiêng định trước. Ngoài ra, miếng đệm 42 có thể được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 13 và phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư để giữ cho phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư và phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư lần lượt ở các vị trí cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư ở góc nghiêng định trước. Góc nghiêng α_2 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 nằm trong khoảng từ 2 đến 5°, tốt hơn là từ 2 đến 3°.

Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy đặt dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư ở một góc nghiêng so với bề mặt trên 40 giá giữ mẫu 39, nhờ đó cho phép tế bào mầm 30 và dung dịch nuôi cấy 23 trong dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư nghiêng về phía phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (hoặc về phía phần đáy), làm cho áp lực nước của tế bào mầm 30 và dung dịch nuôi cấy 23 tăng về phía phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (hoặc về phía phần đáy), cho phép tế bào mầm 30 tập trung về phía phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (hoặc về phía phần đáy), và do đó tăng hoạt tính của các tế bào mầm 30 để cố định ngay và dễ dàng tế bào mầm 30 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư.

Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng việc quan sát sự cố định tế bào mầm lần thứ hai đang diễn ra và nút kết thúc cố định tế bào mầm lần thứ hai. Kính hiển vi điện tử 13 chụp hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ, và truyền hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 đến máy vi tính 11 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khoảng cách thời gian giữa việc chụp hoặc truyền hình ảnh trong kính hiển vi điện tử 13 có thể được cài đặt từ 1 đến 2 giờ bằng linh kiện đầu vào như bàn phím 14 và con chuột 15. Tế bào mầm trung mô 30 (tế bào mầm thứ hai) được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy theo thời gian, được nuôi cấy bằng dung dịch nuôi cấy 23, và tăng sinh (biệt hóa) dần trên đáy dụng cụ nuôi cấy để tạo thành khuẩn lạc.

Máy vi tính 11 lưu trữ hình ảnh phóng to về hình dạng dẹt của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trong vùng lưu trữ để kết hợp với nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm. Máy vi tính 11 hiển thị ảnh phóng to về

dạng phẳng của tế bào mầm 30 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trên bộ hiển thị 17. Người phụ trách xác nhận (nhận biết bằng mắt thường) hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và quan sát các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30. Người phụ trách có thể quan sát trực tiếp các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 từ cửa sổ quan sát của kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ.

Hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) là hình dạng gần như tròn, và khi hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 là hình dạng gần như tròn, tế bào mầm 30 không được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (bề mặt trong của thành đáy), điều này không cho phép tế bào mầm 30 bắt đầu tăng sinh (biệt hóa). Hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) bị biến dạng chứa yếu là hình dạng gần như tròn trước khi được cố định, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm 30 kéo dài (giãn ra) ở dạng vô định hình theo một chiều (chiều định trước), nhờ đó cố định tế bào mầm 30 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (bề mặt trong của thành đáy) và cho phép tế bào mầm 30 bắt đầu tăng sinh (hoạt hóa).

Người phụ trách, theo quan sát ở bước cố định tế bào mầm lần thứ hai, như được minh họa trên Fig. 20, khi hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) được hiển thị trên bộ hiển thị 17 chỉ được quan sát thấy dưới hình dạng gần như tròn, xác định rằng tế bào mầm 30 không được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (bề mặt trong của thành đáy), và liên tục quan sát các thay đổi về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Người phụ trách, như được minh họa trên Fig. 21, khi hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) được

hiển thị trên bộ hiển thị 17 bị biến dạng từ gần như tròn đến chủ yếu gần như tròn và hình dạng dẹt vô định hình, xác định rằng tế bào mầm 30 được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy.

Việc sử dụng dụng cụ nuôi cấy lớn trong đó dung tích vượt quá 60cc và diện tích bề mặt đáy vượt quá 72mm² khi tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) được cố định không dễ dàng cố định được tế bào mầm 30 vào bề mặt đáy của dụng cụ chứa và làm chậm sự tăng sinh tế bào mầm 30, nhưng phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy, sử dụng dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư có dung tích và diện tích bề mặt đáy, có thể dễ dàng cố định tế bào mầm 30 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy và tăng sinh ngay tế bào mầm 30 trong dụng cụ nuôi cấy. Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy cho phép dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể trong khoảng 36 đến 48 giờ, và quan sát sự biến dạng của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, nhờ đó luôn khẳng định được sự biến dạng của tế bào mầm 30 và khẳng định chính xác sự cố định tế bào mầm 30 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy.

Theo quan sát ở bước cố định tế bào mầm lần thứ hai, như được minh họa trên Fig. 22, tế bào mầm trung mô 30 (tế bào mầm thứ hai) bị biến dạng từ gần như tròn (hình dạng phẳng ban đầu) thành chủ yếu gần như tròn và hình dạng dẹt vô định hình, và sau bước xác nhận sự cố định tế bào mầm 30 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư là bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai. Người phụ trách như bác sĩ, y tá, và nhà nghiên cứu, sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm 30 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư, nhấn nút kết thúc cố định tế bào mầm lần thứ hai được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút kết thúc cố định tế bào mầm lần thứ hai được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị thông điệp kết thúc cố định tế bào mầm lần thứ hai, nút quan sát nuôi cấy tế bào mầm lần

thứ hai, và nút lết thúc nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách xả dung dịch nuôi cấy 23 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư từ dụng cụ nuôi cấy ở bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai, và nạp (bảo quản) dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy. Người phụ trách lấy dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư ra khỏi giá giữ mẫu của kính hiển vi điện tử 16, và xả dung dịch nuôi cấy 23 được nạp vào dụng cụ nuôi cấy ở bước cố định tế bào mầm lần thứ nhất khỏi dụng cụ nuôi cấy, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet, và nạp (bảo quản) dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy, bằng cách sử dụng bơm hoặc pipet.

Người phụ trách giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể (khoảng 37°C), để cho dụng cụ này đứng yên trong 36 đến 48 giờ (đứng yên không dịch chuyển), quan sát tổng diện tích của tế bào mầm 30 được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy bằng kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm 28 có đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ tư) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy hay không. Tỷ lệ đích thứ tư của tổng diện tích của tế bào mầm 30 là từ 88 đến 92% (88 đến 92% hợp đồng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy.

Người phụ trách, sau khi nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư, nhấn nút quan sát nuôi cấy lần thứ hai, và đặt (thiết lập) dụng cụ nuôi cấy trong giá giữ mẫu của kính hiển vi điện tử 13. Miếng đệm 42 được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 16 và phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư để giữ cho phần đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư

và phần đỉnh (miệng nạp) của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư lần lượt ở các vị trí cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư ở một góc nghiêng định trước (xem Fig. 8). Ngoài ra, miếng đệm 42 có thể được đặt giữa bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 của kính hiển vi điện tử 16 và phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư để giữ cho phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư được nâng lên bởi miếng đệm 42, cho phép giữ phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư và phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư lần lượt ở các vị trí cao hơn và thấp hơn, và giữ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư ở góc nghiêng định trước. Góc nghiêng α_2 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư so với bề mặt trên 40 của giá giữ mẫu 39 nằm trong khoảng từ 2 đến 5°, tốt hơn là từ 2 đến 3°.

Sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm 30, phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy, xả dung dịch nuôi cấy 23 trong dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư và nạp dung dịch nuôi cấy mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư, nhờ đó thúc đẩy chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm 30. Phương pháp tạo ra dung dịch sản phẩm nuôi cấy đặt dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư ở một góc nghiêng so với bề mặt trên 40 giá giữ mẫu 39, nhờ đó cho phép tế bào mầm 30 và dung dịch nuôi cấy 23 trong dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư nghiêng về phía phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (hoặc về phía phần đáy), làm cho áp lực nước của tế bào mầm 30 và dung dịch nuôi cấy 23 tăng về phía phần đỉnh của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (hoặc về phía phần đáy), cho phép tế bào mầm 30 tập trung về phía phần đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (hoặc về phía phần đỉnh), và do đó tăng hoạt tính của các tế bào mầm 30 để cố định ngay và dễ dàng tế bào mầm 30 vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư.

Bộ hiển thị 17 hiển thị thông điệp rằng việc quan sát nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai đang diễn ra và nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai. Người phụ trách, sau khi xác nhận sự cố định tế bào mầm 30, xả dung dịch nuôi cấy 23 khỏi dụng cụ nuôi cấy, nạp dung dịch nuôi

cây mới 23 vào dụng cụ nuôi cấy để thúc đẩy chắc chắn sự tăng sinh tế bào mầm 30(tế bào mầm thứ hai).

Kính hiển vi điện tử 13 chụp hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ, và truyền hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 đến máy vi tính 11 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khoảng cách thời gian giữa việc chụp hoặc truyền hình ảnh trong kính hiển vi điện tử 13 có thể được cài đặt từ 1 đến 2 giờ bằng linh kiện đầu vào như bàn phím 14 và con chuột 15. Máy vi tính 11 lưu trữ hình ảnh phóng to về hình dạng dẹt của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trong vùng lưu trữ để kết hợp với nhận dạng người cho và nhận dạng tế bào mầm. Máy vi tính 11 hiển thị ảnh phóng to về dạng phẳng của tế bào mầm 30 được truyền từ kính hiển vi điện tử 13 và thời gian chụp trên bộ hiển thị 17.

Người phụ trách xác nhận (bằng mắt thường) hình ảnh phóng to về hình dạng phẳng của tế bào mầm 30 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong 36 đến 48 giờ, và quan sát tổng diện tích của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm 30 có đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ tư) (88 đến 92% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy hay không. Người phụ trách có thể quan sát trực tiếp tổng diện tích của tế bào mầm 30 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy từ cửa sổ quan sát của kính hiển vi điện tử 13 với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng 36 đến 48 giờ, và xác định xem tổng diện tích của tế bào mầm 30 có đạt tỷ lệ đích (88 đến 92% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy hay không.

Người phụ trách, theo quan sát ở bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai, như được minh họa trên Fig. 21, khi tổng diện tích của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) được hiển thị trên bộ hiển thị 17 không đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ tư) (88 đến 92% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư, liên tục quan sát tổng diện tích của tế bào mầm 30 so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ. Khi tổng diện tích của tế bào mầm 30 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ tư) của tổng diện tích của hình ảnh phóng to được hiển thị trên bộ hiển thị 17, tổng diện tích của tế bào mầm 30 được xác định là đạt tỷ lệ đích của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư.

Theo quan sát ở bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai, như được minh họa trên Fig. 22, tế bào mầm 30 của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư (tế bào mầm thứ hai) được tăng sinh trên đáy (bề mặt trong của thành đáy) để cho phép tế bào mầm 30 tạo thành khuẩn lạc và hình dạng phẳng của nó giãn ra, và khi tổng diện tích của tế bào mầm 30 được hiển thị trên bộ hiển thị 17 đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ tư) (88 đến 92% hợp dòng) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy, loại tế bào mầm trung mô đơn 30 tăng sinh (biệt hóa) từ dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư được chiết.

Dung dịch nuôi cấy 23 (còn lại) được bảo quản trong dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ tế bào mầm 30 của nó trong quá trình nuôi cấy (tăng sinh) loại tế bào mầm trung mô đơn 30 (tế bào mầm thứ hai), và dung dịch nuôi cấy 23 còn lại trong dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư là dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24. Người phụ trách, sau khi xác nhận rằng tổng diện tích của tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) đạt tỷ lệ đích (tỷ lệ đích thứ tư) của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư, nhấn nút tế bào mầm kết thúc nuôi cấy lần thứ hai được hiển thị trên bộ hiển thị 17. Khi nút kết

thức nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai được được nhấn, máy vi tính 11 hiển thị nút kết thúc nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai và nút kết thúc việc chiết tế bào mầm lần thứ hai trên bộ hiển thị 17.

Fig. 23 là sơ đồ minh họa ví dụ về tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) và dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được bảo quản. Người phụ trách hút dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 (dung dịch nuôi cấy 23) được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư từ dụng cụ nuôi cấy, bằng cách sử dụng pipet, và bảo quản dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 trong pipet. Sau đó, người phụ trách, sau khi rửa dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư bằng PBS, nạp dung dịch trypsin vào dụng cụ nuôi cấy. Khi dung dịch trypsin được nạp vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư, tế bào mầm trung mô 30 (tế bào mầm thứ hai) được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy bong khỏi đáy nhờ dung dịch trypsin, nổi lên bề mặt của dung dịch trypsin. Người phụ trách, sau khi hút tế bào mầm 30 bằng pipet, và bảo quản tế bào mầm 30 trong pipet, nhấn nút kết thúc việc chiết tế bào mầm lần thứ hai. Khi nút kết thúc việc chiết tế bào mầm lần thứ hai được nhấn, bộ hiển thị 17 hiển thị nút lưu trữ dữ liệu về dụng cụ bảo quản tế bào mầm và nút lưu trữ dữ liệu về dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm.

Người phụ trách, sau khi chiết dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 và tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai), chuẩn bị dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 và dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20, gắn thẻ IC 18 lên bề mặt chu vi ngoài của dụng cụ chứa bảo quản tế bào mầm 19 của nó, và gắn thẻ IC 18 lên bề mặt chu vi ngoài của dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 của nó. Người phụ trách nhấn nút lưu trữ dữ liệu về dụng cụ bảo quản tế bào mầm, và sử dụng thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12, lưu trong thẻ IC 18 của dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào mầm của thẻ IC 18 được gắn vào dụng cụ nuôi cấy dẹt thứ tư. Ngoài ra, người phụ trách nhấn nút lưu trữ dữ liệu về dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm, và sử dụng thiết bị đọc/ghi thẻ IC 12, lưu

vào thẻ IC 18 của dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 dữ liệu người cho và dữ liệu tế bào mầm của thẻ IC 18 được gắn vào dụng cụ nuôi cấy đợt thứ tư. Sau khi từng dữ liệu được lưu trữ trong thẻ IC 18 của từng dụng cụ chứa 19, 20, bộ hiển thị 17 hiển thị màn hình ban đầu.

Người phụ trách nạp (bảo quản) tế bào mầm 30 (tế bào mầm thứ hai) từ pipet vào dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19. Loại tế bào mầm trung mô đơn 30 được nạp vào dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 là loại tế bào mầm trung mô đơn và cụ thể gần nuôi cấy có hoạt tính thu được bằng cách loại bỏ tế bào mầm trung mô không mong muốn. Người phụ trách, sau khi nạp tế bào mầm 30 (loại tế bào mầm trung mô đơn) từ pipet vào dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19, bảo quản dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 của nó trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14. Loại tế bào mầm trung mô đơn 30 (tế bào mầm thứ hai) được đặt trong dụng cụ bảo quản tế bào mầm 19 và bảo quản trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14 ở nhiệt độ định trước (3 đến 5°C hoặc làm lạnh) trong khoảng thời gian định trước.

Người phụ trách nạp (bảo quản) dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 từ pipet vào dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20. Dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được nạp vào dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm trung mô đơn và cụ thể 30 cần nuôi cấy có hoạt tính thu được bằng cách loại bỏ tế bào mầm trung mô không mong muốn. Người phụ trách, sau khi nạp dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 từ pipet vào dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20, bảo quản dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 của nó trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14. Dung dịch sản phẩm nuôi cấy 24 được đưa vào dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm 20 và bảo quản trong tủ lạnh 14 hoặc tủ đông 14 ở nhiệt độ định trước (3 đến 5°C hoặc làm lạnh) trong khoảng thời gian định trước.

Giải thích các chữ số và số

- 10 hệ thống tế bào mầm hoạt hóa nuôi cấy
- 11 máy vi tính
- 12 thiết bị đọc/ghi thẻ IC
- 13 kính hiển vi điện tử
- 14 tủ lạnh hoặc tủ đông
- 15 bàn phím
- 16 con chuột
- 17 bộ hiển thị
- 18 thẻ IC
- 19 dụng cụ bảo quản tế bào mầm
- 20 dụng cụ bảo quản dung dịch sản phẩm
- 21 dụng cụ nuôi cấy đợt thứ nhất (dụng cụ nuôi cấy thứ nhất)
- 22 tế bào mầm ở trạng thái nghỉ (tế bào mầm trung mô ở trạng thái nghỉ)
- 23 dung dịch nuôi cấy
- 24 dung dịch sản phẩm nuôi cấy
- 25 đáy
- 26 dung dịch nuôi cấy hỗn hợp
- 27 tế bào mầm hoạt hóa (tế bào mầm trung mô hoạt hóa)
- 28 dụng cụ nuôi cấy đợt thứ hai (dụng cụ nuôi cấy thứ hai)

29 đáy

30 tế bào mầm (tế bào mầm trung mô thứ hai)

31 dịch tủy xương thô

32 ống nghiệm thủy tinh

33 giá đựng ống nghiệm

34 bể có nhiệt độ không đổi

35 dịch tủy xương lớp trung gian

36 ống nghiệm thủy tinh

37 thiết bị tách ly tâm

38 tế bào mầm (tế bào mầm trung mô thứ nhất)

39 giá giữ mẫu

40 bề mặt trên

41 phần đáy

42 miếng đệm

43 phần đỉnh

44 miệng nạp

45 phần đáy

46 phần đỉnh

47 miệng nạp

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa để tạo ra loại tế bào mầm hoạt hóa đơn bằng cách hoạt hóa loại tế bào mầm đơn ở trạng thái nghỉ sau khi bảo quản trong khoảng thời gian định trước loại tế bào mầm đơn được tạo ra bằng cách nuôi cấy dịch tủy xương thu được từ đối tượng cho, pháp này bao gồm các bước:

cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ để nạp một loại tế bào mầm đơn ở trạng thái nghỉ, dung dịch nuôi cấy định trước, và dung dịch sản phẩm nuôi cấy được tạo ra trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn làm thành phần tế bào mầm ở trạng thái nghỉ trước khi bảo quản tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào dụng cụ nuôi cấy thứ nhất có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước, và cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất; và

nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ để nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất nhờ bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, tăng sinh và hoạt hóa tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đến khi tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đạt tỷ lệ đích thứ nhất của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và chuyển đổi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ thành loại tế bào mầm hoạt hóa đơn,

trong đó ở bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, dung dịch nuôi cấy hỗn hợp gồm dung dịch nuôi cấy và dung dịch sản phẩm nuôi cấy được xả khỏi dụng cụ nuôi cấy thứ nhất sau khi cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất nhờ bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới được nạp vào dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được nuôi cấy, sử dụng dung dịch nuôi cấy hỗn hợp mới gồm dung

dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới,

trong đó ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được để cho đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 12 đến 24 giờ, sự biến dạng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng từ 12 đến 24 giờ, và khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bị biến dạng từ hình dạng phẳng ban đầu thành hình dạng phẳng định trước, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được xác định là được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và

trong đó tỷ lệ đích thứ nhất của tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ là từ 70 đến 80% diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và ở bước nuôi cấy tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được để cho đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ, và tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng từ 36 đến 48 giờ.

2. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm 1, trong đó trong đó hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ là hình dạng gần như tròn, và hình dạng phẳng của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bị biến dạng chủ yếu là hình dạng gần như tròn, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ kéo dài ở dạng vô định hình theo một chiều, và ở bước cố định tế bào mầm ở trạng thái nghỉ, khi tế bào mầm ở trạng thái nghỉ bị biến dạng thành hình dạng dẹt vô định hình, tế bào mầm ở trạng thái nghỉ được xác định là được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất.

3. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm 1 hoặc 2, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

cố định tế bào mầm hoạt hóa để chiết từ dụng cụ nuôi cấy thứ nhất tế bào mầm hoạt hóa khi tổng diện tích của tế bào mầm ở trạng thái nghỉ đạt tỷ lệ đích thứ nhất của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, nạp tế bào mầm hoạt hóa được chiết, dung dịch nuôi cấy mới, và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cấy thứ hai có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước, dung tích này lớn hơn dung tích của dụng cụ nuôi cấy thứ nhất, và cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai; và

nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa để nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai nhờ bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, và tăng sinh tế bào mầm hoạt hóa đến khi tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa đạt tỷ lệ đích thứ hai của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai.

4. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm 3, trong đó ở bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, dung dịch nuôi cấy hỗn hợp gồm dung dịch nuôi cấy và dung dịch sản phẩm nuôi cấy được xả khỏi dụng cụ nuôi cấy thứ hai sau khi cố định tế bào mầm hoạt hóa vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai nhờ bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới được nạp vào dụng cụ nuôi cấy thứ hai, và tế bào mầm hoạt hóa được cố định vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai được nuôi cấy, bằng cách sử dụng dung dịch nuôi cấy hỗn hợp mới gồm dung dịch nuôi cấy mới và dung dịch sản phẩm nuôi cấy mới.

5. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm 3 hoặc 4, trong đó ở bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, dụng cụ nuôi cấy thứ hai được để cho đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng

định trước trong 36 đến 48 giờ, sự biến dạng của tế bào mầm hoạt hóa từ hình dạng phẳng ban đầu trong dụng cụ nuôi cấy thứ hai được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng từ 36 đến 48 giờ, và khi tế bào mầm hoạt hóa bị biến dạng từ hình dạng phẳng ban đầu thành hình dạng phẳng định trước, tế bào mầm hoạt hóa này được xác định là được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai.

6. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm 5, trong đó hình dạng phẳng ban đầu của tế bào mầm hoạt hóa là hình dạng gần như tròn, và hình dạng phẳng của tế bào mầm hoạt hóa này bị biến dạng chủ yếu là hình dạng gần như tròn, và hình dạng dẹt khi tế bào mầm hoạt hóa kéo dài ở dạng vô định hình theo một chiều, và ở bước cố định tế bào mầm hoạt hóa, khi tế bào mầm hoạt hóa bị biến dạng thành hình dạng dẹt vô định hình, tế bào mầm hoạt hóa được xác định là được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai.

7. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 6, trong đó tỷ lệ đích thứ hai của tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa là từ 88 đến 92% diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai, và ở bước nuôi cấy tế bào mầm hoạt hóa, dụng cụ nuôi cấy thứ hai được để cho đứng yên ở khoảng cùng nhiệt độ như nhiệt độ cơ thể ở góc nghiêng định trước trong 36 đến 48 giờ, và tổng diện tích của tế bào mầm hoạt hóa được cố định vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai so với diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ hai được quan sát với khoảng cách thời gian khoảng 1 đến 2 giờ trong khoảng từ 36 đến 48 giờ.

8. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó dung dịch sản phẩm nuôi cấy, trong quá trình nuôi cấy loại tế bào mầm đơn, chứa chất chuyển hóa định trước được tiết ra từ loại tế bào mầm đơn.

9. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó loại tế bào mầm đơn được chuẩn bị bằng các bước:

cổ định tế bào mầm lần thứ nhất để tách dịch tủy xương thu được từ đối tượng cho thành các lớp, chiết dịch tủy xương lớp trung gian nằm ở lớp trung gian của dịch tủy xương được tách thành các lớp, nạp dịch tủy xương lớp trung gian và dung dịch nuôi cấy định trước vào dụng cụ nuôi cấy thứ ba có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước, và cổ định tế bào mầm thứ nhất chứa trong dịch tủy xương lớp trung gian vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba;

nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất để xả dung dịch nuôi cấy trong dụng cụ nuôi cấy thứ ba sau khi cổ định tế bào mầm thứ nhất vào bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba nhờ bước cổ định tế bào mầm lần thứ nhất, nạp dung dịch nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cấy thứ ba, nuôi cấy tế bào mầm thứ nhất, và tăng sinh tế bào mầm thứ nhất đến khi tổng diện tích của tế bào mầm thứ nhất đạt tỷ lệ đích thứ ba của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ ba;

cổ định tế bào mầm lần thứ hai để tách ly tâm tế bào mầm thứ nhất được nuôi cấy bằng bước nuôi cấy tế bào mầm lần thứ nhất thành các lớp, chiết tế bào mầm thứ hai nằm ở lớp thấp nhất của tế bào mầm thứ nhất được tách thành các lớp, nạp tế bào mầm thứ hai và dung dịch nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cấy thứ tư có dung tích định trước và bề mặt đáy có diện tích định trước, dung tích này lớn hơn dung tích của dụng cụ nuôi cấy thứ ba, và cổ định tế bào mầm thứ hai vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư; và

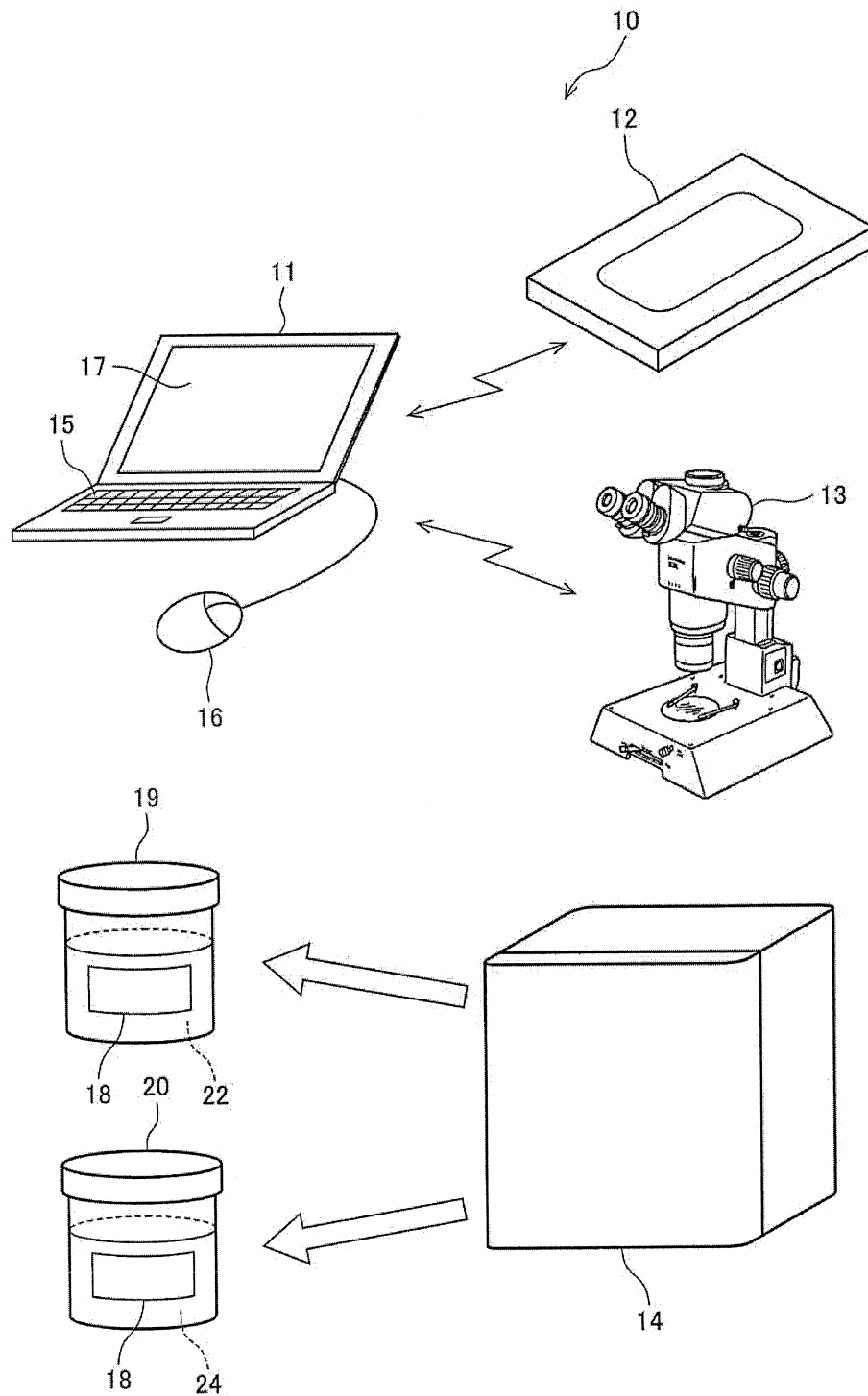
nuôi cấy tế bào mầm lần thứ hai để xả dung dịch nuôi cấy trong dụng cụ nuôi cấy thứ tư sau khi cổ định tế bào mầm thứ hai vào đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư nhờ bước cổ định tế bào mầm lần thứ hai, nạp

dung dịch nuôi cấy mới vào dụng cụ nuôi cấy thứ tư, nuôi cấy tế bào mầm thứ hai, và tăng sinh tế bào mầm thứ hai đến khi tổng diện tích của tế bào mầm thứ hai đạt tỷ lệ đích thứ tư của diện tích bề mặt đáy của dụng cụ nuôi cấy thứ tư.

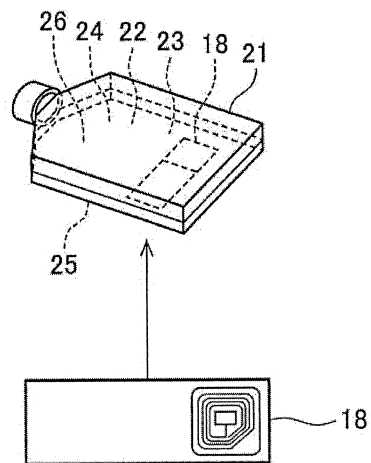
10. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm 9, trong đó dung dịch sản phẩm nuôi cấy là dung dịch nuôi cấy còn lại thu được bằng cách chiết tế bào mầm đơn thứ hai từ dụng cụ nuôi cấy thứ tư.

11. Phương pháp tạo ra tế bào mầm hoạt hóa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó các tế bào mầm này là các tế bào mầm trung mô.

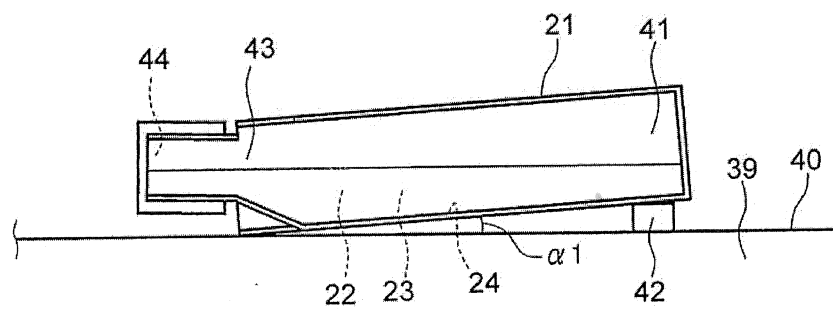
[Fig. 1]



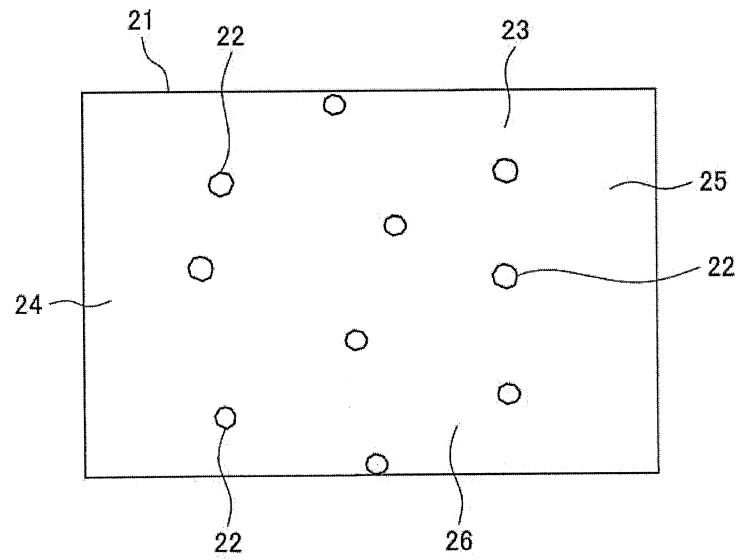
[Fig. 2]



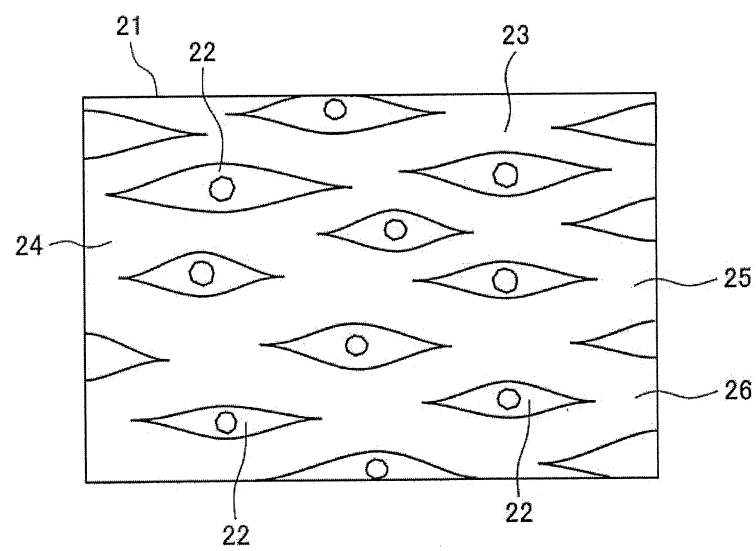
[Fig. 3]



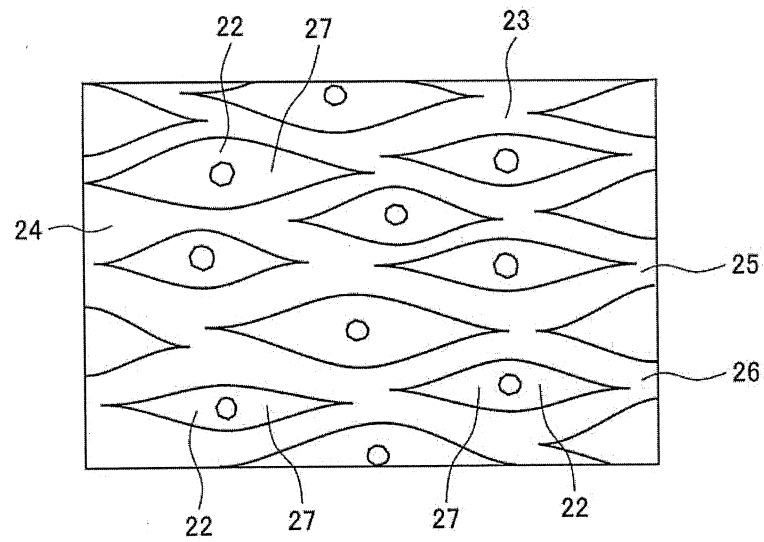
[Fig. 4]



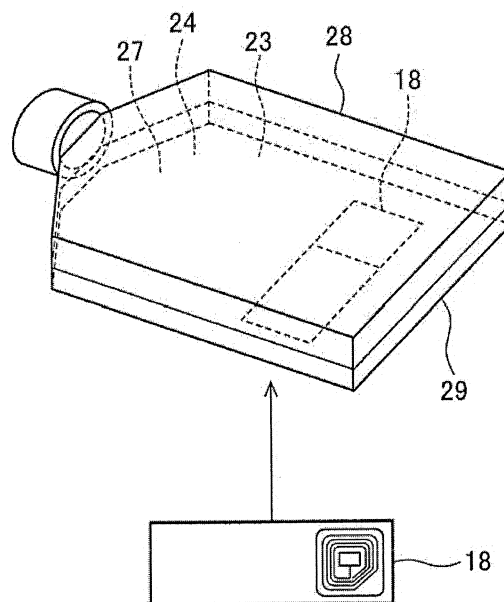
[Fig. 5]



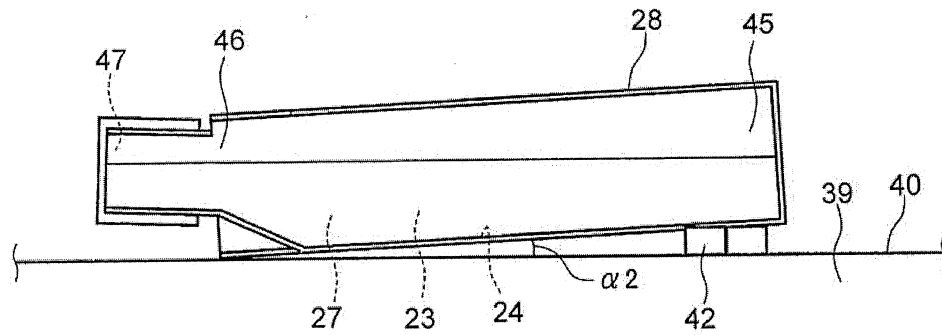
[Fig.6]



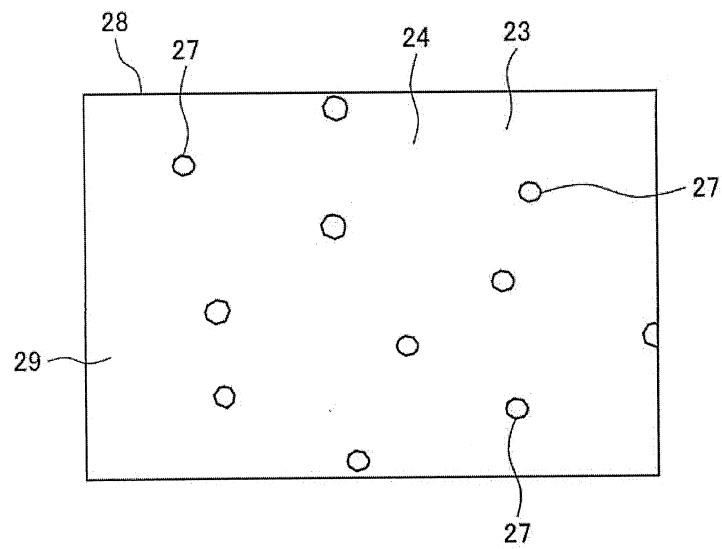
[Fig.7]



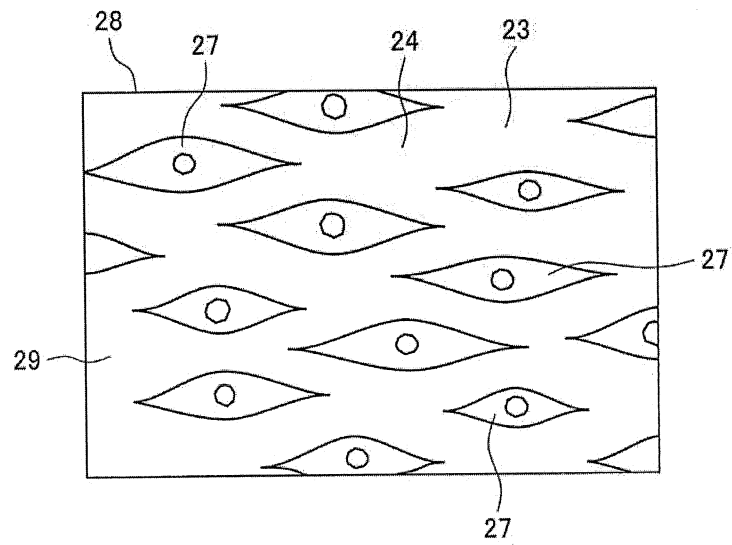
[Fig. 8]



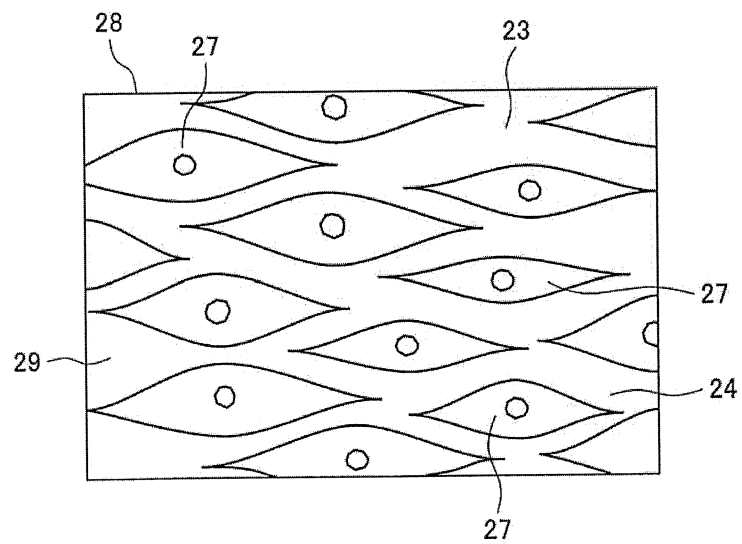
[Fig. 9]



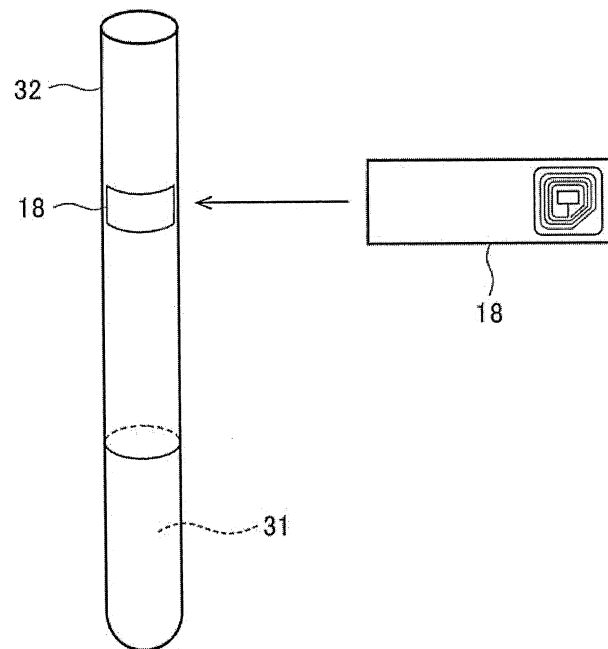
[Fig.10]



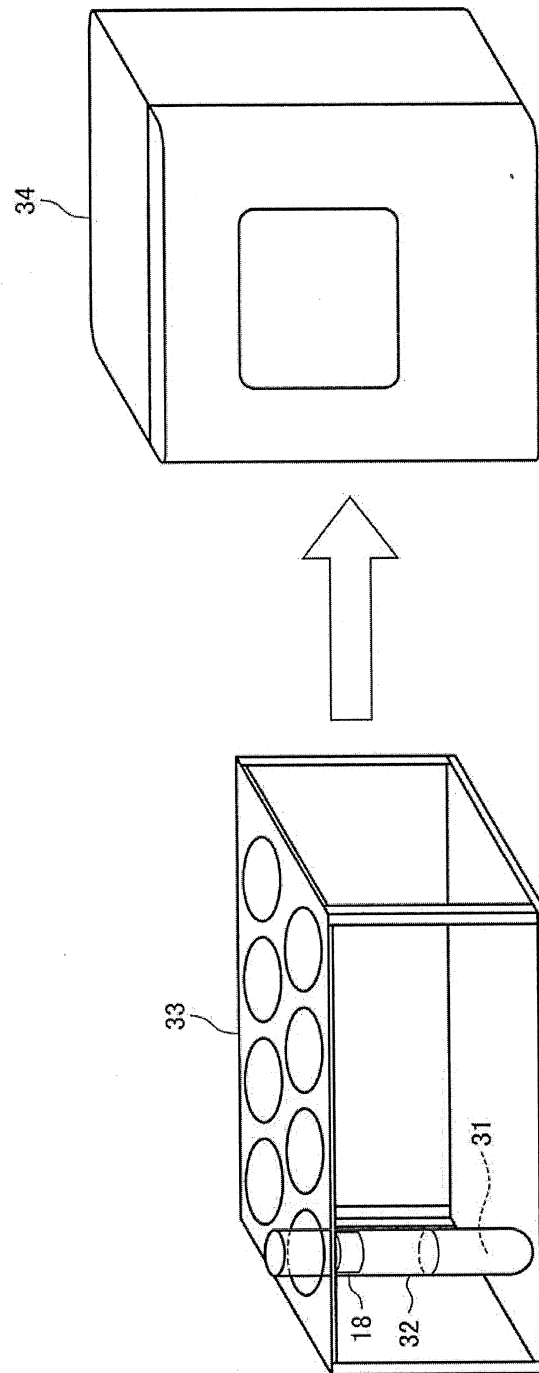
[Fig. 11]



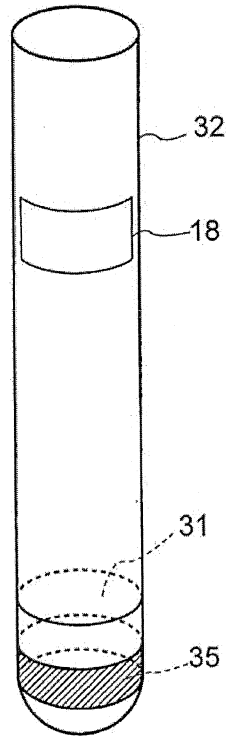
[Fig. 12]



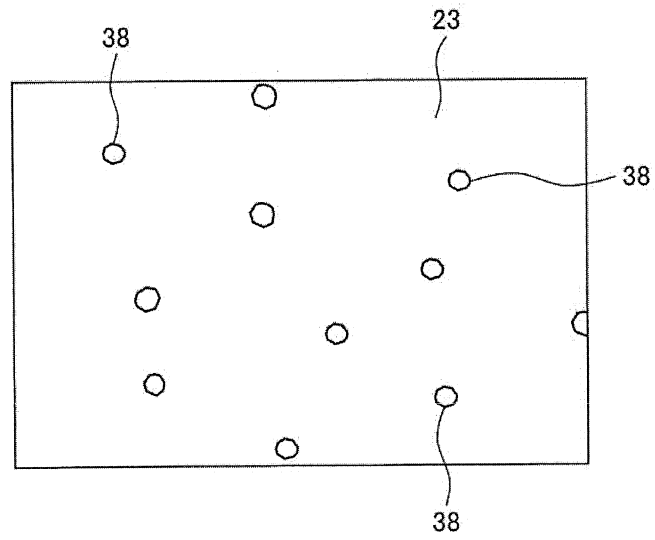
[Fig. 13]



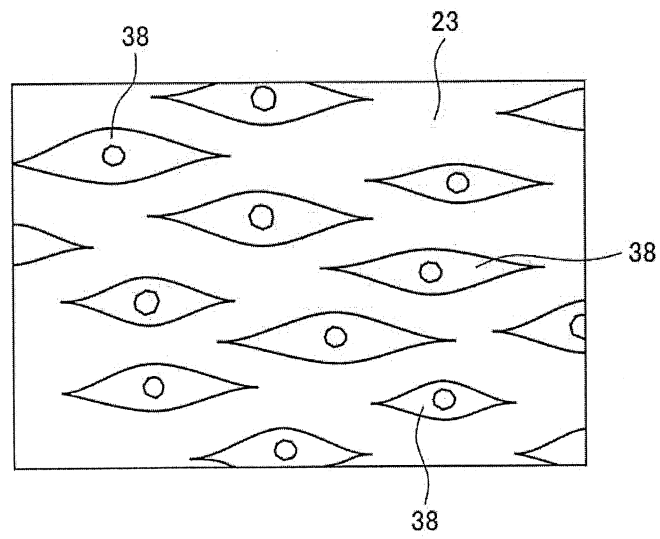
[Fig. 14]



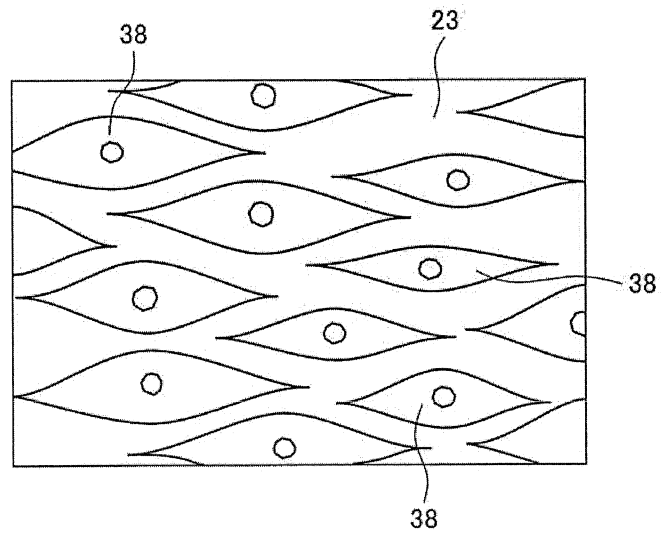
[Fig. 15]



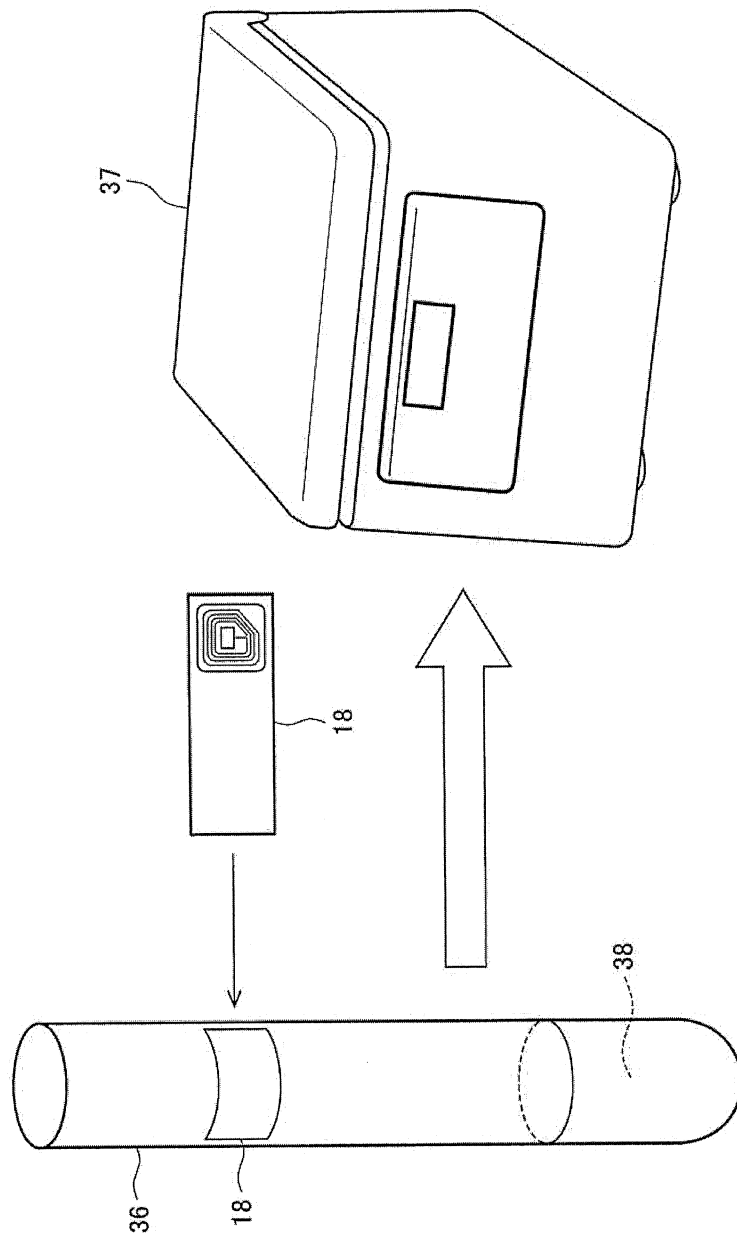
[Fig. 16]



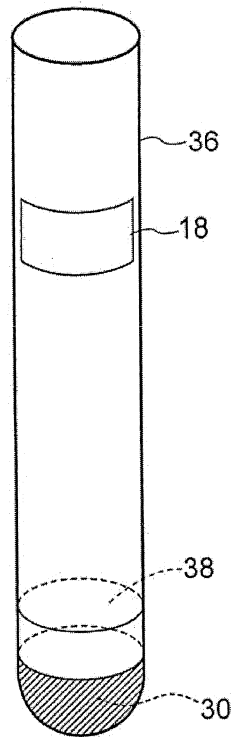
[Fig. 17]



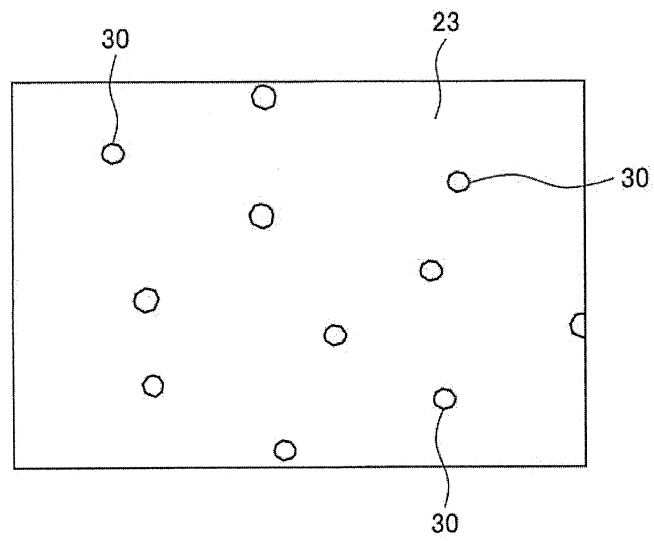
[Fig. 18]



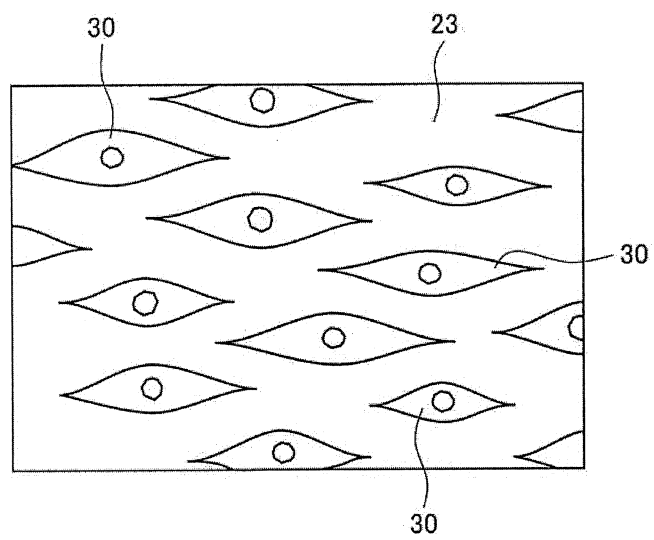
[Fig. 19]



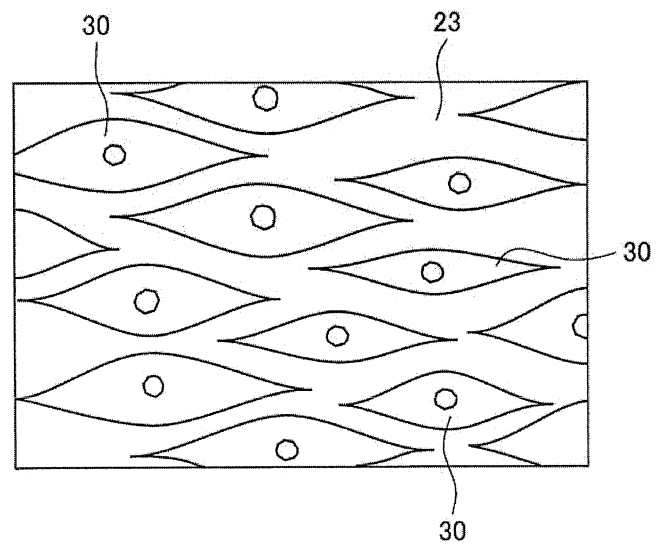
[Fig. 20]



[Fig.21]



[Fig. 22]



[Fig. 23]

