

		SOP 文件			
文件编号: SOP 1001	修订编号: 001	起效日: 2015 年 3 月 10 日	申请日: 2015 年 3 月 1 日	页码: 1/58	
文件名: 临床人胰岛分离、纯化 专业生产批记录					

1.0 专业生产批记录的批准（签名）

_____ 日期: _____

_____ 日期: _____

_____ 日期: _____

_____ 日期: _____

_____ 日期: _____

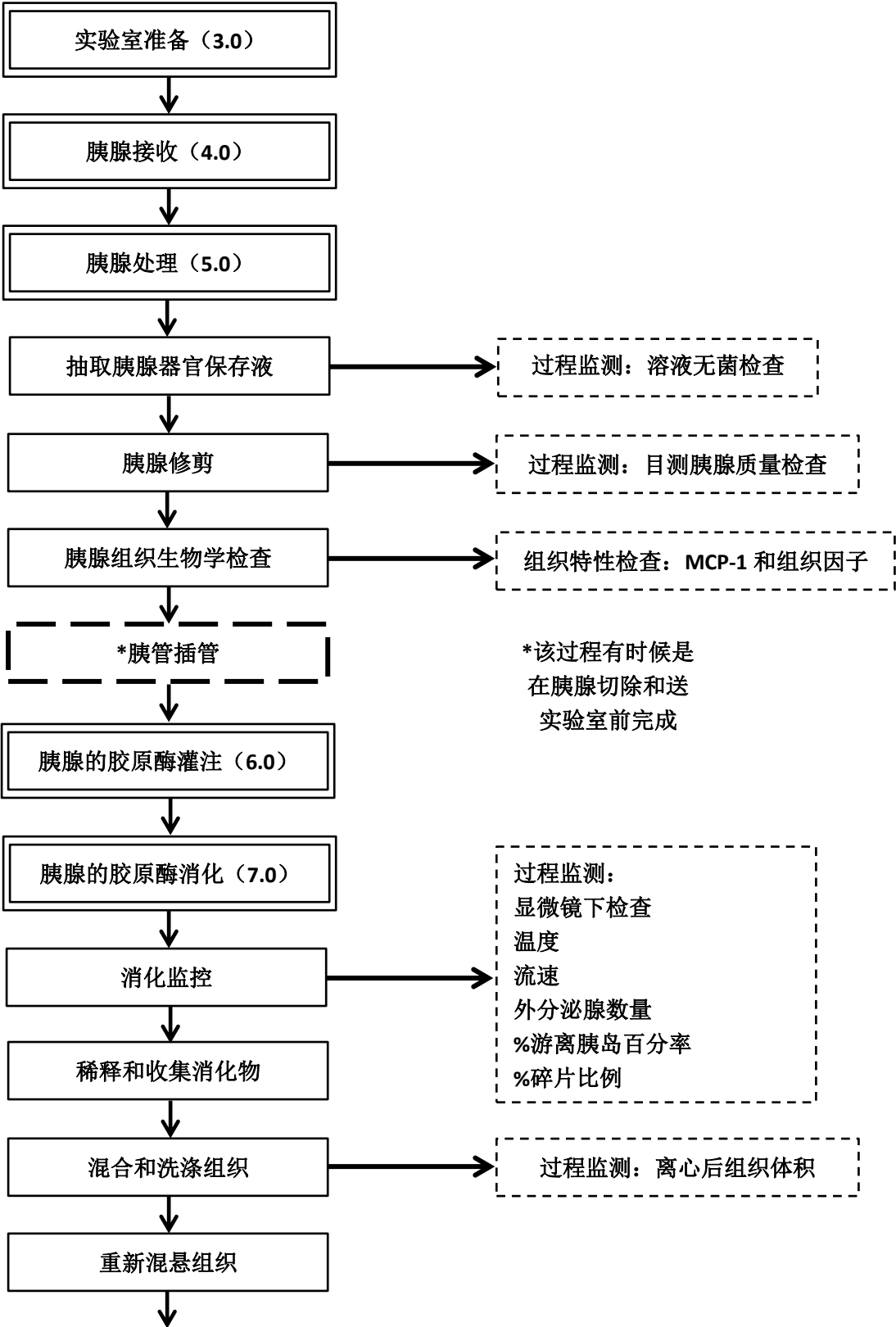
名单如有改动，请提前告知项目组委员会主任，经项目组全体委员或其代表同意，方可启用新名单

胰岛编号: _____

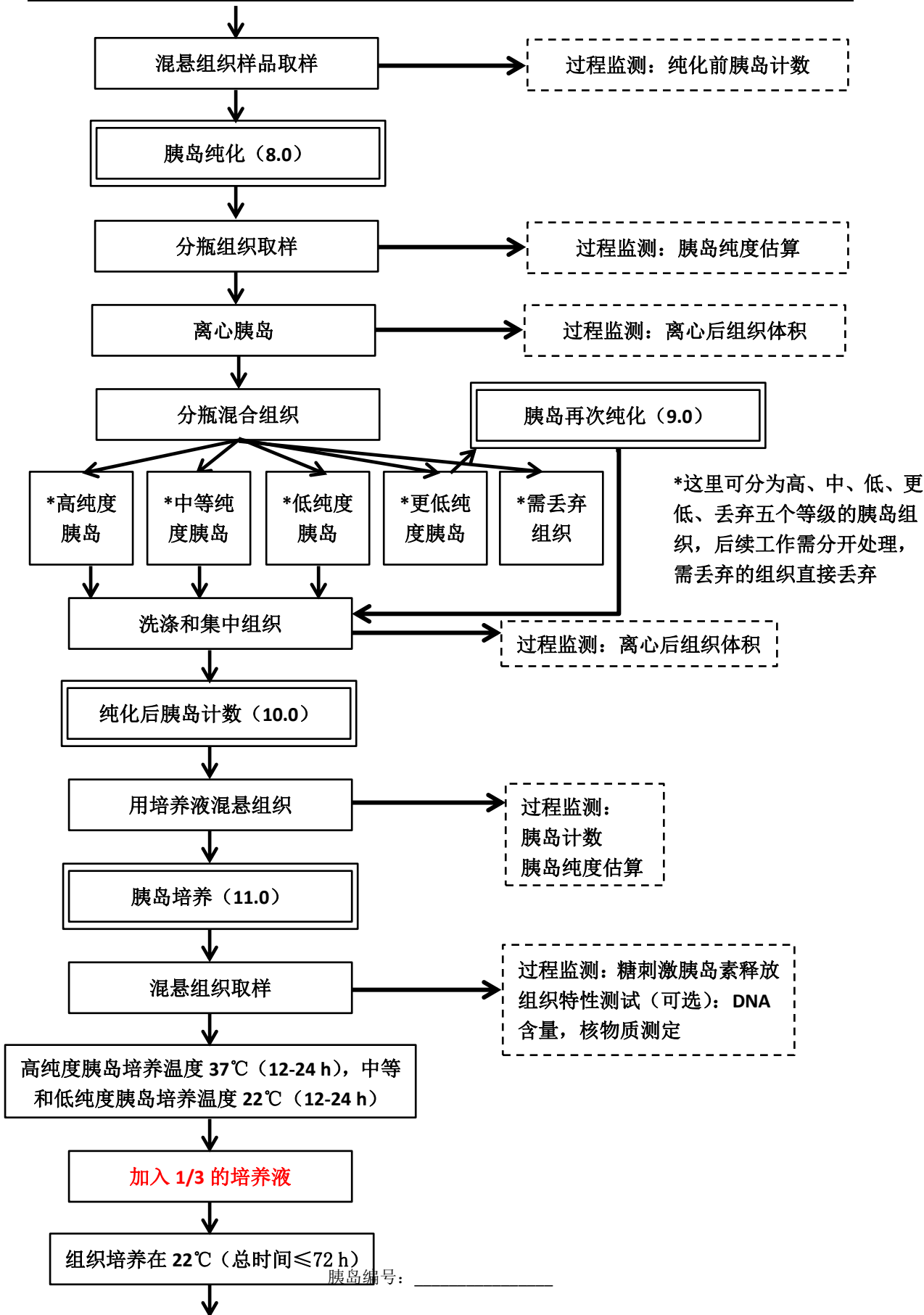
文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：2/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

2.0 流程图和取样表

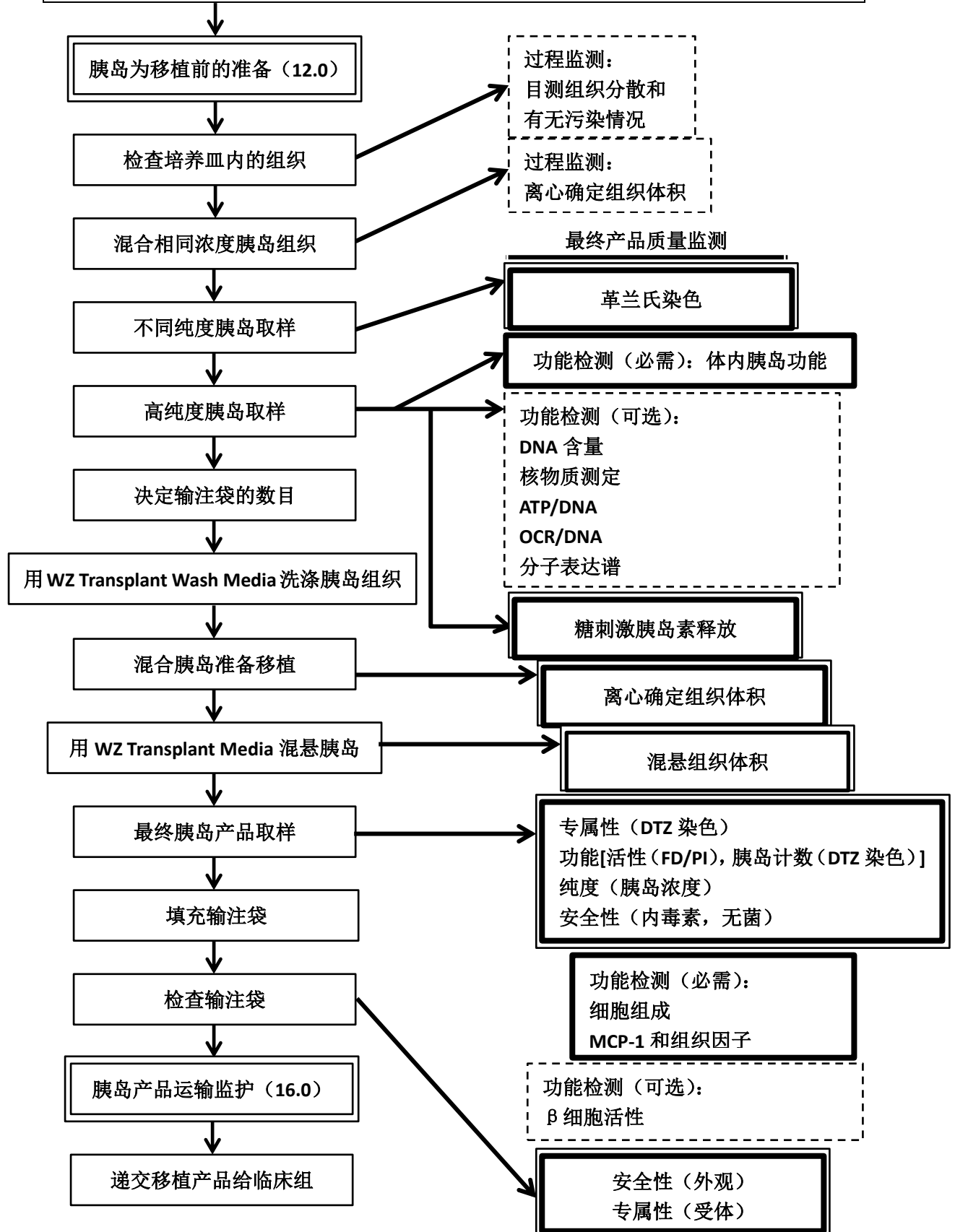
2.1 流程图



文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：3/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				



文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：4/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				



文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：5/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

2.2 取样与检测

批记录 章节	样品类型与数量	
	过程监测	检测项目
5.1	胰腺保存液， ≥ 3 ml	无菌检查和真菌培养
7.1.3	胰腺消化，不定时取样， $\leq 1-2$ ml	外分泌腺和胰岛数量，胰岛游离率%，碎片比例%
7.5.1	稀释的消化后组织液， $2*100 \mu\text{l}$	胰岛计数
8.3.7	纯化后分瓶组织，每瓶 0.5 ml，共 12 瓶/（每轮纯化）	胰岛纯度（%）
8.4.3	再次纯化的更低纯度胰岛， $2*100 \mu\text{l}$ （可选）	胰岛计数
10.2	纯化后胰岛，高、中、低纯度， $2*100 \mu\text{l}$	胰岛计数
12.10	培养后的胰岛，高、中、低纯度，全部的组织	组织体积
12.13	纯化后胰岛，高、中、低纯度， $2*100 \mu\text{l}$	培养后胰岛计数
	中间和最终的质量分析	
11.1	混悬液，400 IEQ，高纯度胰岛	糖刺激胰岛素释放
12.11.5	培养液的上清液，根据机构测定要求的体积，高、中、低纯度胰岛	革兰氏染色
12.13&1 2.14,or1 2.17.1	混悬液， $2*100 \mu\text{l}$ /每个最终的 T-75 培养皿	胰岛专属性，定量，集中
12.17.2	混悬液，100IEQ/每个最终的 T-75 培养皿	活性
12.17.3	培养液的上清液，1 ml/每个最终的 T-75 培养皿	内毒素
12.18	混合的胰岛组织，高、中、低纯度全部组织	沉淀的组织体积
	仅最终分析证明	
12.14	混悬液，400IEQ，高纯度胰岛（培养后样品）	糖刺激胰岛素释放
12.17.2	根据机构测定的要求取每个 T-75 培养皿组织体积	无菌检查和真菌培养
	必需的产品特性试验（仅用于收集信息）	
5.6	表面活检，大约 3 mm*3 mm*3 mm	MCP-1 和组织因子
12.14	混悬液，4000 IEQ，高纯度胰岛	体内（裸鼠）胰岛功能
12.17.2	混悬液，1000 IEQ/每个最终的 T-75 培养皿	细胞组成
12.17.2	混悬液，500-1000 IEQ/每个最终的 T-75 培养皿	MCP-1 和组织因子
	可选择的产品特性检测（仅用于收集信息）	
11.1	混悬液， $3*100$ IEQ，高纯度胰岛	培养前 DNA 含量测定
11.1	混悬液， $3*100$ IEQ，高纯度胰岛	核物质测定
12.14	混悬液， $3*100$ IEQ，高纯度胰岛	培养后 DNA 含量测定
12.14	混悬液， $3*100$ IEQ，高纯度胰岛	核物质测定
12.14	混悬液，500 IEQ，高纯度胰岛	ATP/DNA
12.14	混悬液，5000 IEQ，高纯度胰岛	OCR/DNA
12.14	混悬液，5000 IEQ，高纯度胰岛	分子表达谱
12.14	混悬液，500 IEQ，高纯度胰岛	胰岛分数
12.17.2	混悬液，2000 IEQ/每个最终的 T-75 培养皿	β 细胞活性

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：6/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

备注：

- 1) 所有在胰岛分离纯化过程中使用的试剂和耗材，均需要通过无菌方式传递，每一个参与操作的工作人员均需要经过严格培训后方可操作，以防增加感染的机会，操作过程中所有的接触胰腺或胰岛的废弃物质都要进行医疗废弃物安全处理；
- 2) 尤其要严格注意防止胰腺和胰岛被外源性微生物和热源性物质的污染，接触胰腺和胰岛的试剂、器材必须是灭菌的、无热源污染的，并尽可能一次性使用；无菌操作过程必须遵循本批记录方法进行；所有的开放性操作过程必须保证在 II 级干净和无污染的环境或生物安全柜中进行；
- 3) 如果在按照本操作过程中的任何时候，你发现有如下情况：

- I) 胰腺或胰岛结果可能有问题；
 - II) 任何试剂、材料外观或包装与以前不同；
 - III) 任何的设备运行不正常或不恰当；
 - IV) 出现与批记录描述的情况不同的偏差；
- 你必须记录并马上告知实验室负责人，或设计者。

实验室负责人或设计者必须严格审核观察的结果，并根据本机构的操作程序来解决该问题，并形成报告，署上名字和日期、机构名称；出现的情况的记录可写在批记录后面的“情况报告表”栏中，并编上专用的编号，如胰岛批号-报告#；如果需要汇报，则需连同该附件或复印件一并提交，如无需汇报，则保存好记录；偏差的报告一般要提交胰岛分离、纯化和移植组相关负责人共同讨论。

3.0 实验室准备

3.1 操作机构、人员、试剂、耗材、无菌条件和操作设备的确认。

3.1.1 人胰岛分离、纯化生产机构

机构名称：_____

3.1.2 人员

下表中附上全体直接参与本次批记录操作人员的姓名、签名、首字母缩写。

姓名	签名	拼音首字母缩写

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：7/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

3.1.3 购买的原材料、试剂

下表列出了操作过程中所需购买的原材料和试剂，包括一些专门的产品货号和供应商，如果没有标明要专门的产品货号和供应商，则表上购买时的产品货号和供应商，并写上每个使用产品的批号和过期日期。

原料和试剂名称	货号	供应商	批号	过期日期
胰腺处理前的试剂：				
外科手术器械清洗液				
消毒杀菌液				
福尔马林固定液				
二乙酸荧光素（FDA）		Sigma		
碘化吡啶（PI）		Sigma		
双硫棕（DTZ）				
DMSO 溶液				
70%酒精消毒喷雾				
胰岛消化、纯化、培养过程中的试剂：				
乳酸钠林格氏液				
Collagenase NB1		SERVA		
Neutral Protease NB		SERVA		
HEPES 溶液（1 M）				
HBSS				
无菌注射用水				
CaCl ₂ ·2H ₂ O				
Digestion supplement Solution				
肝素钠		12500U/瓶		
胰岛素		400 U/瓶		
人血清白蛋白		25%，100 ml		
RPMI1640				
重组人 DNA 酶		2.5 ml，1mg/ml		
Wash 1 Solution				
Wash 2 Solution				
High Density Supplement solution				
Low Density Supplement solution				
CMRL 1066				
Glutamine Solution				
Gradient 1037				

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：8/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

Gradient 1069				
Gradient 1096				
Gradient 1118				
胰岛样生长因子 IGF-1	(暂无)			
盐酸	(暂不需要)			
胰岛移植用试剂及袋子：				
Transplant Media				
Ricordi Infusion Bag	IB-01			
胰岛功能评价中的试剂：				
Kreb's 浓缩液				
人胰岛素检测试剂盒				
内毒素检测相关试剂				

审核员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：9/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

3.1.4 灭菌耗材的确认

确认所有使用的耗材已经灭菌，确定灭菌日期和编号，耗材已通过传递窗口递送进入主要操作间，并根据指示在灭菌有效期范围内使用。

确认员：_____ 日期：_____

3.1.5 设备的确认

确认所有操作过程中使用的设备运行正常，有产品编号和识别码等；开启离心机降温，离心机、超净台喷洒酒精消毒，并铺好手术棕单。

确认员：_____ 日期：_____

3.1.6 使用试剂的确认

确认所有操作过程中使用的试剂的货号、供应商、批号和过期日期，并通过传递窗口递送进入主要操作间。

确认员：_____ 日期：_____

3.1.7 取碎冰，冰冻生理盐水 1 L、乳酸钠林格氏液 1 L、Hanks 液 500 ml；配制 DTZ 溶液和消化收集液。

确认员：_____ 日期：_____

3.2 生物安全柜和实验室的准备

准备实验室，包括生物安全柜，水浴、离心机、蠕动泵、COBE2991 使用前酒精喷洒消毒。

确认员：_____ 日期：_____

3.3 胰岛消化后组织稀释和收集用溶液的配制

3.3.1 RPMI1640 在配制胰岛组织稀释和收集液前需室温下放置 1-2h 以平衡温度至室温。

确认员：_____ 日期：_____

3.3.2 提前配制以下 4 瓶收集液至 1L 的容器中，使用前储存于 2-8℃ 环境中。

成分表	需要量	使用量
瓶 1		
RPMI1640 (ml)	400	
25%人血白蛋白 (ml)	200	
肝素钠 (Units, 终浓度: 10 Units/ml)	10000	
重组人胰岛素 (Units, 终浓度: 0.2 Units/ml)	200	
瓶 2		
RPMI1640 (ml)	400	
25%人血白蛋白 (ml)	200	
肝素钠 (Units, 终浓度: 10 Units/ml)	10000	
重组人胰岛素 (Units, 终浓度: 0.2 Units/ml)	200	

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：10/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

瓶 3		
RPMI1640 (ml)	500	
25%人血白蛋白 (ml)	100	
肝素钠 (Units, 终浓度: 10 Units/ml)	10000	
重组人胰岛素 (Units, 终浓度: 0.2 Units/ml)	200	
瓶 4		
RPMI1640 (ml)	500	
25%人血白蛋白 (ml)	100	
肝素钠 (Units, 终浓度: 10 Units/ml)	10000	
重组人胰岛素 (Units, 终浓度: 0.2 Units/ml)	200	

操作员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

3.3.3 保证配制足够的收集液，如需增加收集液，则需加入足够的 25%的人血白蛋白至每瓶浓度为 1.5%的白蛋白，即一般为 RPMI1640: 540 ml, 25%的白蛋白 60 ml, 肝素钠终浓度: 10 Units/ml, 胰岛素终浓度: 0.2 Units/ml。

增加的收集瓶编号：_____

增加的每个收集瓶体积：_____

增加的每个收集瓶中可收集的组织混悬液的体积：_____

增加的每个收集瓶中的白蛋白的体积（一般为 60 ml）：_____

4.0 胰腺的接收

4.1 胰腺到达实验室的时间：_____（使用 24 小时制记录）

器官接收员：_____ 日期：_____

4.2 供体信息登记表

按下述内容要求提供供体信息

姓名：_____； 年龄：_____； 性别：_____； 种族：_____；

身 高：_____厘米； 体重：_____kg； BMI：_____； 血糖：_____mg/dl；

HAB1c：_____； 血型：_____； HLA: A:_____ B:_____ DR:_____；

乙肝表面抗原： 阳性 阴性 未检测； HIV: 阳性 阴性 未检测；

其他传染性疾病：_____；

保存液体：_____； 住院时间：_____天；

死亡原因：_____；

器官获取时间：_____年_____月_____日_____时_____分；

器官获取地：_____；

供体编号：_____；

供体摘取操作员：_____ 日期：_____

该供体是否符合胰腺供体来源： 是 否 （画圈）

记录员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：11/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

4.3 检查包装是否完整，供体记录是否完整

包装完整： 是 否 （画圈）
供体记录完整： 是 否 （画圈）

5.0 胰腺的准备

5.1 抽取胰腺保存液体样品待做无菌检测。

器官保存液：_____

使用灭菌技术，在 100 级区域打开胰腺无菌包装容器。抽取至少 3 mL 胰腺保存液，标记并交与相关实验室进行细菌检查，并将结果的复印件贴至相应的批记录上。

取样人：_____ 日期：_____

在文件 17.1 部分记录相应的结果。

注意：有时候胰腺是部分清洁和剪切的，或者是器官获取后送到实验室前马上处理的，在这些情况下，将这些情况记录下来并附到该批记录后。

5.2 将胰腺放至含有 1 g/L 头孢唑啉钠溶液的 Trimming 溶液的冷盘里（或乳酸钠林格氏液），去除多余的脂肪和被膜组织。

修剪开始时间：_____

操作人：_____ 日期：_____

5.3 检查清洁后的胰腺，观察并在下表中记录观察到的结果。

下表中的每一项内容都为单选题。

脂肪	_____ 干净	水肿	_____ 无
	_____ 一般		_____ 间隙有水肿
	_____ 有实质浸润		_____ 整体有轻微的肿胀
	_____ 严重浸润		_____ 整体膨胀
器 官 保 存 液 的 灌 注	_____ 灌注很好	胰 腺 组 织 状 态	_____ 很软
	_____ 灌注不好		_____ 柔软
	_____ 灌注一般		_____ 紧实（正常）
			_____ 很多紧实的部位（纤维化）
血液	_____ 毛细血管上有血液	胰 腺 完 整 程 度	_____ 通体僵硬
	_____ 内部实质上有血液		_____ 完整
	_____ 无血液存在		_____ 被膜损坏
			_____ 实质损坏

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：12/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

初步病理学是否观察？ 是 否 （画圈）

描述：_____

检测员：_____ 日期：_____

5.4 根据标准 SOP 准备消化酶溶液，并做好相应的批记录。

操作员：_____ 日期：_____

5.5 胰腺表面的清洁工作

按照设计，可将胰腺放到 250 mL 的 HBSS 或者含 1 mg/mL 头孢唑啉钠的保存液或者 10% 的聚维酮碘溶液，然后用 400 mL 的 HBSS 1*溶液清洗胰腺，将其转移到一个新的含 400 mL HBSS 1*的瓶中，再次洗涤，移除生物安全柜（BSC）中原有的盘和器械，放入干净的、无菌的盘和器械。

胰腺表面清洁方法：_____

记录人：_____ 日期：_____

5.6 胰腺的活检

在供体胰腺的主胰管周围 1 cm 处剪取大约 3 mm*3 mm* 3 mm 组织进行表面活检，需要进行 MCP-1 和组织因子检查。根据指示包装和运送到 CIT 胰岛实验室。

操作员：_____ 日期：_____

5.7 胰腺重量

胰腺表面多余的组织修剪完后，称一下胰腺重量。

胰腺第一次修剪后的重量：_____ g

记录人：_____ 日期：_____

复核员：_____ 日期：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：13/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

5.8 消化酶溶液的配制

根据消化酶溶液的配制方法来配制消化酶

5.8.1 SERVA 公司胶原酶的配制方法（见附表）

5.8.2 Vitacyste 胶原酶的配制方法

5.8.3 Roche 胶原酶的配制方法

在配制表上记录胶原酶的配制过程。

记录人：_____ 日期：_____

5.9 消化酶溶液（记录每种酶使用的量，Units）

实际使用的胶原酶活性量：_____

实际使用的中性蛋白酶活性量：_____

实际使用的嗜热菌蛋白酶量：_____

划掉没有使用的成分。

配制的消化酶溶液体积：_____ ml

审核人：_____ 日期：_____

5.10 胰腺插管

胰腺将采用程序控制的方式灌注胶原酶，因此事先要采用在胰颈部断开胰腺，在胰头和胰尾的主胰管内分别插入 16-22 号针头，并做好结扎。

操作员：_____ 日期：_____

5.11 插管完后，如果有必要，可进一步去除胰腺表面多余的组织，放置到另一个单独的称量纸上。

在灌注之前评价下胰腺和修剪的程度：

记录人：_____ 日期：_____

6.0 胰腺的胶原酶灌注

6.1 根据说明书指导安装灌注管路。

操作员：_____ 日期：_____

6.2 开始灌注胶原酶溶液

- 1) 按照说明书程序，管路先用少量 HBSS 溶液灌注一遍，以确认连接管路是否有漏；
- 2) 加入 4-8℃ 的胶原酶到修剪盘上，重新灌注满管路系统，去除管路的气泡；
- 3) 连接灌注管路到针头上，开启灌注机，前面 4-10min 压力在 60-80mm Hg，接下来 4-6 min 压力 160-180 mmHg（如果膨胀差的话，在 8 min 到达最大值），温度 4-14℃，按照下表记录观察到的温度和压力的增加情况；
- 4) 在下表中记录开始灌注（胶原酶进入胰腺）的时间；
- 5) 在灌注过程中监控温度和压力的变化，记录在下表中；
- 6) 观察流量的变化，记录在下表中（流量过快可能为组织有渗漏，需阻止渗漏）；
- 7) 在 10 min 时停止灌注（膨胀不良的话需 12min），如果灌注时间超过 12min，则要记录下为何超时灌注的正当理由。

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：14/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

胰腺灌注压力和温度表：

			开始时间：				
			胰头		胰尾		
设计的温度 (°C)	设计的压力 (mmHg)	时间 (min)	观察到的压力 (mmHg)	观察到的流速 (mL/min)	观察到的压力 (mmHg)	观察到的流速 (mL/min)	观察到的温度 (°C)
4-14	60-80	2					
4-14	60-80	4					
4-14		6					
4-14		8					
4-14		10					
4-14							
4-14							
4-14	160-180	停止灌注					
灌注完成			完成时间：		完成时间：		
总共灌注时间 (min)							
灌注后剩余酶溶液的量			g or mL (一次循环)				
膨胀质量 (一次循环)			非常好 很好 部分		非常好 很好 部分		
胰腺膨胀的评价 (如果只有部分膨胀, 描述下)							
灌注模式：			自动		手动		(灌注一次)
数据记录人：			日期：				

灌注期间和灌注后继续清理胰腺，修剪非胰腺组织，用容器收集所有修剪掉的组织。

灌注后修剪停止的时间 (可选)：_____

操作员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：15/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

6.3 胰腺最后修剪后的重量

灌注和修剪完毕，称一下第二次修剪下的组织，并记录于下表 B 栏，计算最后修剪后的胰腺重量。

A. 第一次修剪后胰腺重量（上面 5.7 部分）	g
B. 第二次修剪下来的组织重量	g
C. 最后修剪后的胰腺重量（A-B=C）	g
D. 未消化组织重量（7.3 部分）	g
E. 消化的胰腺组织重量（C-D=E）	g

记录人：_____ 日期：_____

复核员：_____ 日期：_____

根据 SOP3106 中表（B11，B13，B14）计算所需要的消化酶溶液的体积，加到 Ricordi Digestion Chamber 中。

操作员：_____ 日期：_____

6.4 根据指示过程组装胰腺消化装置。使用 500-600 mL Ricordi Digestion Chamber。

操作员：_____ 日期：_____

6.5 消化用胰腺的准备

将胰腺剪切到 5 – 15 块 1 – 1.5 英寸长得小块组织，放到 Ricordi Digestion Chamber 中，并放入 6 – 10 颗玻璃钢珠和相应的酶溶液。放置一张直径为 0.533 μ m 的编织的不锈钢筛网盖住 Chamber，并盖上盖子。确保 Chamber 密封严实，防止渗漏。

操作员：_____ 日期：_____

6.6 胰腺处理过程中相关时间的计算

在下表中记录胰腺处理过程中的时间情况。计算胰腺处理时间（整个胰腺开始处理时间，5.2 部分；胰腺灌注开始时间：6.2 部分）和冷缺血时间（从供体记录中的器官切取时间到灌注开始时间 6.2），在下表中记录这些资料。

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：16/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

	日期	时间
A. 器官切取时间（供体记录）		
B. 处理开始时间（5.2 部分）		
C. 灌注开始时间（6.2 部分）		
	D. 胰腺准备时间（D=C-B）	Hours_____Minutes_____
	E. 冷缺血时间*（E=C-A）	Hours_____Minutes_____

*冷缺血时间必须小于 12 h，如果冷缺血时间超过 12 h，则马上要通知该机构的主要项目负责人。

记录人：_____ 日期：_____

计算员：_____ 日期：_____

复核员：_____ 日期：_____

如果机构的主要项目负责人被通知超过了冷缺血时间，则需要完成下表：

被通知人姓名：_____

报告员姓名：_____

报告日期和时间：_____

7.0 含酶胰腺的消化

7.1 胰腺的消化

7.1.1 添加剩余的胶原酶溶液到循环用量筒中，进入消化管路。

添加 0-5 mL 重组人 DNA 酶（2.5 mL/安瓿，1 mg/mL）到 Ricordi 消化罐中，加入的重组人 DNA 酶（1 mg/mL）的体积：_____ mL

操作员：_____ 日期：_____

7.1.2 消化开始时蠕动泵的速率为 230 ± 20 mL/min 来填充系统。在 7.2 部分的表中记录作为消化开始的时间。加入足够的消化溶液（Digestion Solution）到管路中，填充消化的管路并完全消除管路中的空气。

马上开始记录 Chamber 中的温度和流速到 7.2 的表中。

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：17/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

开始的 5 min 轻轻的摇晃 Chamber，然后下降流速到 110 ± 20 mL/min。开始振摇 Chamber，大约 3–5 min 使 Chamber 的温度达到目标温度：32–38 °C。

复核员：_____ 日期：_____

7.1.3 观察管路中的组织，当组织已经发现被消化了时，用注射器针筒吸取 1–2 mL 样品到 35 mm 的培养皿中，加入 DTZ 溶液进行染色。在显微镜下观察消化情况。重复取样（每次都取相同体积的样品），然后在消化过程中每 1–2 min 观察一次消化情况。记录消化 Chamber 中的温度和流速和你观察到的染色的样品，记录结果如下表。维持温度在 32–38 °C，基于消化的质量，考虑下述因素，决定何时中止消化和开始稀释：

因素	决定从消化到稀释的理想等级*
组织数量	3 到 6
胰岛数目	> 45 个胰岛
胰岛细胞 free 比例%	> 50%
移到碎片比例%（消化过度）	<10%

*看下面的指标来判断。

注意：评价消化和决定消化中止的标准：

- 通过将组织聚到培养皿的中心，来评估组织的数量，在显微镜下*40 倍观察组织数量，观察在视野中组织占有的比例（6=组织占有整个视野，3=组织占有一半的视野，0=没有组织）；
- 估算胰岛的数量（一个粗略的目测，10–20，30–50，80–90 个胰岛，等）；
- 估算胰岛的 free 比例%（free 的胰岛占胰岛总数量中的比例，25%，50%，90%，等），Free 的胰岛是指边缘被外分泌组织连接的比例小于 25%；
- 估算胰岛碎片的比例%（胰岛碎片占总胰岛数量的比例，10%，15%，50%，等），胰岛碎片是指那些边缘由于消化过度后变得不整齐或破碎的胰岛（过度消化）。

7.1.4 当决定中止消化时，开始稀释和收集胰岛；在表 7.2 中记录开始稀释的时间（=消化终止时间）和计算总的消化时间。

决定消化中止人员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：18/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

7.2 胰岛消化组织的稀释和收集

- 1) 调整蠕动泵速度至 230 ± 20 ml/min, 继续振摇消化罐;
- 2) 在需要的情况下, 室温下加入新鲜的 RPMI1640 至循环量筒中;
- 3) 在吸释和收集期间, 调整消化罐的温度至 $\leq 30^{\circ}\text{C}$;
如果发现在消化的过程中有大量的被包裹的胰岛细胞, 则稀释过程中的消化罐的温度可继续维持到 $30-38^{\circ}\text{C}$;
- 4) 在收集组织过程中, 轻轻摇晃 1L 的收集瓶子; 当组织收集达到 1L 时, 马上分装组织到 500ml 锥形离心瓶中, $1000\text{ rpm } 2-8^{\circ}\text{C}$ 离心 2 min;
- 5) 定期从消化循环管路抽样口抽取 1-2 ml 组织, 用 2 ml DTZ 染色, 在显微镜下观察染色的样品, 在下表中记录观察的结果;
- 6) 当染色的样品中再没有观察到胰岛, 消化罐中还有少量的组织残留, 停止向消化罐中加入 RPMI1640, 收集系统中剩余的组织液, 然后停止循环蠕动泵;
- 7) 记录在下表的结尾处记录稀释终止的时间, 计算和记录总的稀释时间。

审核员: _____

日期: _____

胰岛编号: _____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：20/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

7.3 从消化罐中取出未消化的胰腺组织，称重，在 6.3 部分表中记录重量，并在表中计算消化的组织重量。

检查下消化罐中未消化的胰腺组织重量，估算未消化的胰腺组织和连接组织的百分比（合起来是 100%），记录于下面：

消化罐中未消化的组织的重量（6.3 部分中也有记录）：_____ g

在 6.3 部分上表中计算消化的胰腺重量。

估算未消化的胰腺组织比例：_____ %

估算未消化的结缔组织比例：_____ %

操作员：_____ 日期：_____

7.4 组织的回收和清洗

7.4.1 消化结束前根据 SOP 相应的配制纯化溶液（Purification Solution）和洗涤溶液（Wash Solution）。并做好记录，溶液在使用前放置于 2-8℃；

7.4.2 在收集消化后稀释液过程中，将其转移到 500 mL 锥形离心管中，2-8℃ 1000 rpm 离心，沉淀组织；

7.4.3 弃去全部的上清液，再加入 Wash Solution 至 500 mL，2-8℃ 1000 rpm 离心，沉淀组织，如此洗涤两遍；弃去全部上清，将沉淀转移到含 2.5 mL 阿法链道酶（1 mg/mL）的 500 mL 锥形离心管中（保持低温）；

注意：确保在混合过程中瓶子维持水平状，以避免组织聚集和低氧条件；

7.4.4 如果还有组织残留在离心管中，则用 30-50 mL Wash Solution 洗涤下；

7.4.5 稀释完成后，所有的组织被混合进入 Wash Solution，轻微旋转彻底混合收集瓶，转移到 500 mL 灭菌的锥形离心管中，2-8℃ 1000 rpm 离心，沉淀组织；

7.4.6 如此洗涤两遍；弃去全部上清，直到细胞外的碎片和 DNA 链得到减少；在洗涤过程中逐步减少锥形离心管的数量，

注意：在收集过程中，在离心后可见 DNA 链连接疏松的沉淀组织的物质形成，转移含大量组织的混悬液到一个 500 mL 的锥形离心管中，并加入 200 μ L 阿法链道酶（1 μ g/mL），加入 Wash Solution 至 200 mL（保持低温），在水平桌面上放置 5 min；重新离心后，当 DNA 链消失后，同别的组织混合；

7.4.7 洗涤完毕后，2-8℃ 1000 rpm 离心沉淀组织；肉眼观察估算在瓶中的组织总体积，抽出上清液直到沉淀组织。

总的组织体积：_____ mL

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：21/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

7.4.8 在 250 ml 锥形离心管中根据组织量用 purification solution 重新混悬组织到 100-250 ml (超过 20 ml 组织就稀释至 200ml)，确保没有凝结成块 (如果需要的话，将其溶解)，记录组织混悬液的体积。

混悬液总体积：_____ ml

审核员：_____ 日期：_____

7.5 纯化前胰岛的计数

7.5.1 均匀混合上述组织溶液，取 2 份 100 μ l 的组织样品进行计数，每个计数一次；

7.5.2 根据纯化计数方法，对组织进行计数并记录于下面表中。

纯化前胰岛计数和计算

取样体积	MI			
总体积	MI			
稀释倍数				
直径 (μ m)，系数	计数		数量 (平均)	当量 (IEQ)
50-100, 0.167				
101-150, 0.648				
151-200, 1.685				
201-250, 3.500				
251-300, 6.315				
301-350, 10.352				
>350, 15.833				
	样品总胰岛量			
	混悬液总胰岛量			
包被胰岛比例%				
胰岛碎片比例%				
计数员签名				

评价：

审核员：_____ 日期：_____

7.5.3 纯化时每轮最大的组织量不要>25ml，如果组织体积<25ml，则离心组织，并用 100 ml purification solution 再混悬，如果组织体积>25ml，则将组织平均至 250ml 锥形离心瓶中直至每瓶组织量<25 ml，每瓶中加入 100ml purification solution，在进行第一轮纯化时，将第二管和后面几管组织放置与冰浴中，注意平放，并经常混合下，以免组织聚集，直到准备进入 COBE2991 机纯化。

250 ml 锥形离心管数目和 COBE 纯化次数：_____

分散至每个 250 ml 离心管中的组织体积：_____ ml

计算员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：22/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

7.5.4 当准备进行 COBE 机第一轮纯化时，往 250 ml 锥形离心管中的 100 ml 组织液中加入 20 ml 25% 的人血白蛋白，然后混合，按照 8.2.11 步骤进样。

对于接下来的几轮 COBE 纯化，需先将组织进行离心，去除上清液，加入 20 ml 25% 的人血白蛋白，重新混悬混合，用 purification solution 将溶液加至 120 ml，按照 8.2.11 步骤进样。

8.0 胰岛纯化

8.1 COBE 2991 的准备

根据操作手册和过程指示，安装好 COBE2991。COBE 机必须冷冻或存放于冷室。

1) 根据高密度液 (1.10 g/ml) 和低密度液 (1.06 g/ml) 的配制方法 (附件) 配制纯化密度梯度液，将配制方法记录在附件中，并附至批记录后；

2) 每轮 COBE 纯化需标记 13 个 250 ml 锥形离心管，其中 1 个 “W1” 管，12 个为 1-12 号胰岛收集管 (见表 8.3)；

3) 在 1-12 号锥形管中各加入 225 ml CMRL 1066，然后存放于 2-8℃。

审核员：_____ 日期：_____

8.2 COBE2991 操作过程-密度梯度液和组织液的导入

8.2.1 根据操作规程将 COBE 机袋子装至 COBE 机中，把管路装到 COBE 机阀的夹槽上 (外面的夹槽)，使用颜色来区分夹的位置。管路不要装到夹槽内，只是放到夹槽管路里；用夹子或热封器夹住黄色、红色、紫色和蓝色管路；仅绿色管路保持开放或未夹住，用来导入密度液和组织；

8.2.2 将 36 英寸的乳胶管 (#16) 端口连接到 COBE 袋的管路 (绿色)，另一端口连接至密度梯度混合器中；往左边密度梯度混合桶中加入搅拌子，开始搅拌；

8.2.3 往左边的密度混合器筒中加入 120 ml 高密度梯度液，以 60 ml/min (或 60 rpm) 的速度将其导入细胞分离袋，当溶液输送至细胞分离袋时，开启 start spin 按钮，机器开始以 2000 rpm 速度旋转；

8.2.4 等全部的溶液进入到袋中时，按 super out 按钮，以 200 rpm 的速度排出袋中的气泡，将管路中的溶液重新上升，打开蠕动泵压头，让气泡从混合筒口排出，管路中充满高密度液体，关闭蠕动泵压头，按 stop reset 按钮，让机器停止转动，液压泵自动下降到位；

8.2.5 往密度梯度混合筒左边加入 125 ml 高密度梯度液，右边加入 125 ml 低密度梯度液，再次开启 start spin 按钮，转速 2000 rpm，开启磁力搅拌和密度梯度混合器中间的阀门，确保密度梯度液充分混合均匀，开启蠕动泵，速度 20 ml/min (或者 20 rpm)；

8.2.6 等密度梯度混合液全部进入 cobe2991，还有最后的液体留在管路中与混合筒相连时，关闭蠕动泵，往左边混合筒中加入约 120ml 的组织混悬液；

8.2.7 略微反转蠕动泵排出管路中的气泡，然后顺转导入组织液，继续转动蠕动泵，组织液进 45 s，停止 30 s，直至组织液都进到管路和细胞分离袋中，再加入 30 ml 溶液洗涤组织瓶，倒到左边的纯化前混合筒，继续导 45 s，停 30 s，将全部的组织液都导进到细胞分离袋中；

8.2.8 用止血钳夹闭绿色管路，小心开启细胞收集袋中的管路，排出细胞分离袋中的气体，并将液面上升到旋转接口上方 1 英寸的位置 (陶瓷旋转接口处需要有液体，不然旋转口会磨损而溶液泄漏)；

8.2.9 然后开始计时，旋转时间为 3min；

审核员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：23/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

8.3 COBE2991 纯化后组织的收集

8.3.1 在 3min 的旋转过程中准备好收集管，准备收集纯化后的胰岛组织；

8.3.2 3 min 时间到后，小心打开绿色止血钳，开启 super out 按钮，100 rpm 速度将袋中的液体导出细胞分离袋；

8.3.4 第一次收集的是 150 ml 的上清液 Wast 组织，然后按 Hold 停止，接下去每次收集 25 ml 组织至已含有 225 ml 收集液的锥形瓶中，共收集 12 瓶，无菌状态下收集最后一瓶袋中的组织为 Bag，然后按 Stop reset 按钮，停止转动袋子，将管路和袋子取出并丢弃；

8.3.5 快速取收集的 12 瓶组织、Wast、Bag 组织各 0.5 ml 至 24 孔板中，用 2 ml DTZ 染色进行纯度检查；按下表记录下每轮纯化后离心管中胰岛的纯度；

8.3.6 如果 Bag 的组织中的胰岛还很多，则保存在组织至 2-8℃ 中，等待按照 8.4.1 方法处理（离心后用 CMRL1066 洗涤后第二次纯化）；

8.3.7 离心每管组织，并按下表记录下每轮纯化后离心管中胰岛的量，弃去上清液；

8.3.8 采用 10 ml 移液枪将 250 ml 离心管中的组织合并成四个纯度，用 CMRL1066 稀释至各 100ml 的组织，四个组织的纯度如下：

- 1) High Purity（高纯度，>70%）（H）；
- 2) Middle Purity（中等纯度，40-69%）（M）；
- 3) Low Purity（低纯度，30-39%）（L）；
- 4) Supplement Purity 或 Low Low Purity（更低纯度，5-30%）（S 或 LL）

还有个纯度的组织为丢弃组（Dischard）（D），仅含有少量的胰岛或不含胰岛，为直接丢弃的组织；对于上述四个纯度的组织，加 30 ml CMRL1066 混匀后水平放置保存于室温下，直到几轮 COBE 纯化全部结束，然后根据纯度进行分别混合；

注意：在纯化记录上记录和计算相关的纯化层结果：

- 1) 组织的体积：估算每瓶组织离心后的组织体积，并记录；
- 2) 纯度%：根据总组织量中的胰岛相对量（%）来估算胰岛纯度；
- 3) H、M、L、S、D 是指前面定义的五种纯度的胰岛组织；

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：24/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

每管重复此纯化过程。

纯化数据记录，COBE 第一次纯化#1:

层面	介质	数量
顶层	Purification Solution	30 mL
组织层	_____ mL 离心后的组织进行这一次的纯化，加 20 mL 的人血白蛋白， 25%溶液，适量的 Purification Solution 使到达 120 g	120 g
密度梯度	低密度梯度液 (1.06 g/mL)	125 g
	高密度梯度液 (1.10 g/mL)	125 g
底部	高密度梯度液 (1.10 g/mL)	120 g
离心开始时间		离心结束时间

#	CMRL 1066 Supplemented 预加体积 (mL)	收集组 织体积 (mL)	组织的离 心后体积 (mL)	评价	胰岛 纯度 (%)	H: 高纯度, M: 中纯 度, L: 低纯度, S: 更低纯, D: 丢弃(圈)
W	0	150				H M L S D
1	225	25				H M L S D
2	225	25				H M L S D
3	225	25				H M L S D
4	225	25				H M L S D
5	225	25				H M L S D
6	225	25				H M L S D
7	225	25				H M L S D
8	225	25				H M L S D
9	225	25				H M L S D
10	225	25				H M L S D
11	225	25				H M L S D
12	225	25				H M L S D
袋	0	95				S D

纯化结果的评价: _____

记录人: _____ 日期: _____

审核人: _____ 日期: _____

胰岛编号: _____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：25/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

纯化数据记录，COBE 第二次纯化#2:

层面	介质	数量
顶层	Purification Solution	30 mL
组织层	_____ mL 离心后的组织进行这一次的纯化，加 20 mL 的人血白蛋白， 25%溶液，适量的 Purification Solution 使到达 120 g	120 g
密度梯度	低密度梯度液（1.06 g/mL）	125 g
	高密度梯度液（1.10 g/mL）	125 g
底部	高密度梯度液（1.10 g/mL）	120 g
离心开始时间		离心结束时间

#	CMRL 1066 Supplemented 预加体积 (mL)	收集组 织体积 (mL)	组织的离 心后体积 (mL)	评价	胰岛 纯度 (%)	H: 高纯度, M: 中纯 度, L: 低纯度, S: 更低纯, D: 丢弃(圈)
W	0	150				H M L S D
1	225	25				H M L S D
2	225	25				H M L S D
3	225	25				H M L S D
4	225	25				H M L S D
5	225	25				H M L S D
6	225	25				H M L S D
7	225	25				H M L S D
8	225	25				H M L S D
9	225	25				H M L S D
10	225	25				H M L S D
11	225	25				H M L S D
12	225	25				H M L S D
袋	0	95				S D

纯化结果的评价: _____

记录人: _____

日期: _____

审核人: _____

日期: _____

胰岛编号: _____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：26/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

纯化数据记录，COBE 第三次纯化#3:

层面	介质	数量
顶层	Purification Solution	30 mL
组织层	_____ mL 离心后的组织进行这一次的纯化，加 20 mL 的人血白蛋白， 25%溶液，适量的 Purification Solution 使到达 120 g	120 g
密度梯度	低密度梯度液（1.06 g/mL）	125 g
	高密度梯度液（1.10 g/mL）	125 g
底部	高密度梯度液（1.10 g/mL）	120 g
离心开始时间		离心结束时间

#	CMRL 1066 Supplemented 预加体积 (mL)	收集组 织体积 (mL)	组织的离 心后体积 (mL)	评价	胰岛 纯度 (%)	H: 高纯度, M: 中纯 度, L: 低纯度, S: 更低纯, D: 丢弃(圈)
W	0	150				H M L S D
1	225	25				H M L S D
2	225	25				H M L S D
3	225	25				H M L S D
4	225	25				H M L S D
5	225	25				H M L S D
6	225	25				H M L S D
7	225	25				H M L S D
8	225	25				H M L S D
9	225	25				H M L S D
10	225	25				H M L S D
11	225	25				H M L S D
12	225	25				H M L S D
袋	0	95				S D

纯化结果的评价: _____

记录人: _____

日期: _____

审核人: _____

日期: _____

胰岛编号: _____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：27/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

纯化数据记录，COBE 第四次纯化#4:

层面	介质	数量
顶层	Purification Solution	30 mL
组织层	_____ mL 离心后的组织进行这一次的纯化，加 20 mL 的人血白蛋白， 25%溶液，适量的 Purification Solution 使到达 120 g	120 g
密度梯度	低密度梯度液（1.06 g/mL）	125 g
	高密度梯度液（1.10 g/mL）	125 g
底部	高密度梯度液（1.10 g/mL）	120 g
离心开始时间		离心结束时间

#	CMRL 1066 Supplemented 预加体积 (mL)	收集组 组织体积 (mL)	组织的离 心后体积 (mL)	评价	胰岛 纯度 (%)	H: 高纯度, M: 中纯 度, L: 低纯度, S: 更低纯, D: 丢弃(圈)
W	0	150				H M L S D
1	225	25				H M L S D
2	225	25				H M L S D
3	225	25				H M L S D
4	225	25				H M L S D
5	225	25				H M L S D
6	225	25				H M L S D
7	225	25				H M L S D
8	225	25				H M L S D
9	225	25				H M L S D
10	225	25				H M L S D
11	225	25				H M L S D
12	225	25				H M L S D
袋	0	95				S D

纯化结果的评价: _____

记录人: _____ 日期: _____
审核人: _____ 日期: _____

胰岛编号: _____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：28/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

纯化数据记录，COBE 第五次纯化#5：

层面	介质	数量
顶层	Purification Solution	30 mL
组织层	_____ mL 离心后的组织进行这一次的纯化，加 20 mL 的人血白蛋白， 25%溶液，适量的 Purification Solution 使到达 120 g	120 g
密度梯度	低密度梯度液（1.06 g/mL）	125 g
	高密度梯度液（1.10 g/mL）	125 g
底部	高密度梯度液（1.10 g/mL）	120 g
离心开始时间		离心结束时间

#	CMRL 1066 Supplemented 预加体积 (mL)	收集组 织体积 (mL)	组织的离 心后体积 (mL)	评价	胰岛 纯度 (%)	H: 高纯度, M: 中纯 度, L: 低纯度, S: 更低纯, D: 丢弃(圈)
W	0	150				H M L S D
1	225	25				H M L S D
2	225	25				H M L S D
3	225	25				H M L S D
4	225	25				H M L S D
5	225	25				H M L S D
6	225	25				H M L S D
7	225	25				H M L S D
8	225	25				H M L S D
9	225	25				H M L S D
10	225	25				H M L S D
11	225	25				H M L S D
12	225	25				H M L S D
袋	0	95				S D

纯化结果的评价：_____

记录人：_____ 日期：_____

审核人：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：29/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

注：如果上面几次纯化过程没有得到移植用的足够数量和足够纯度的胰岛，在中等纯度(M)、低纯度(L)和更低纯度(LL)组织中依然有很多的胰岛，我们还可以采用下面的 8.4 方法进行补救。

8.4 更低纯度组织和 Bag 袋中组织的处理

8.4.1 如上所示，进行 COBE Bag 组织的 DTZ 染色观察，如果发现有较多胰岛（8.3.6），则将组织合并后进行再次纯化；

8.4.2 记录用于再次纯化的全部的组织：

COBE 纯化轮数	用于再次纯化的组织体积数 (ml)
1	
2	
3	
4	
5	

记录人：_____ 日期：_____

审核人：_____ 日期：_____

8.4.3 将组织用 CMRL 1066 稀释至 100-250ml，取 2 个 100 μ l 组织进行计数；

8.4.4 在计数时用 CMRL1066 稀释组织至 250ml；

审核人：_____ 日期：_____

8.4.5 按照计数方法进行胰岛计数并记录于下表中，如果该部分组织中还有超过 50000 IEQ 胰岛，则最好进行纯化。如果进行再次纯化，则按照方法 9.0 处理，如果没有再次纯化，则记录下该部分组织的处理方法。

再次纯化前胰岛的计数和计算

取样体积	μ l			
总体积	ml			
稀释倍数				
直径 (μ m)，系数	计数		数量（平均）	当量（IEQ）
50-100, 0.167				
101-150, 0.648				
151-200, 1.685				
201-250, 3.500				
251-300, 6.315				
301-350, 10.352				
>350, 15.833				
	样品总胰岛量			
	混悬液总胰岛量			
包被胰岛比例%				
胰岛碎片比例%				
计数员签名				

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：30/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

评价：

记录员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

做决定的人：_____ 日期：_____

8.5 需再次纯化组织的准备

如果在 8.4 中决定再次纯化更低纯度的组织，则将组织离心，弃去上清液。

操作员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

9.0 胰岛组织的再次纯化

组织再次纯化的方法有如下三种，可选择一种或几种进行纯化：

9.1 采用碘克沙醇纯化液进行纯化，方法见附件（）；

9.2 采用 Biocoll 方法进行纯化，方法见附件（）；

9.3 采用聚蔗糖方法进行纯化，方法见附件（）；

填写再次纯化记录。

记录员：_____ 日期：_____

同意人：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：31/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

10.0 纯化后胰岛的计数

10.1 当所有的胰岛混合至三个纯度级别，用 Culture Media（配制方法见附件）洗涤各组织一次，并用 Culture Media 稀释至 50-250 ml 组织混悬液；

10.2 轻微混合各纯度组织，各分别取两份 200 μ l 组织进行纯度、数量和当量等的计算，并记录于下表。

纯化后胰岛的计数

	高纯度（H）			中等纯度（M）			低纯度（L）		
取样体积	μ l			μ l			μ l		
总体积	ml			ml			ml		
稀释倍数									
直径（ μ m）， 系数	计数	数 量 （均）	当 量 IEQ	计数	数 量 （均）	当 量 IEQ	计数	数 量 （均）	当 量 IEQ
50-100, 0.167									
101-150, 0.648									
151-200, 1.685									
201-250, 3.500									
251-300, 6.315									
301-350 , 10.352									
>350, 15.833									
取样合计									
胰岛包被例%									
胰岛破碎例%									
胰岛等级*									
计数员签名									

纯化后胰岛的计算

	高纯度（H）	中等纯度（M）	低纯度（L）	总计
纯化后胰岛数量（IPN）				
纯化后胰岛当量（IEQ）				
纯化前胰岛当量（IEQ） （见 7.5.2）				
胰岛当量回收率 IEQ(%， 相对于纯化前 IEQ)				
修剪后每克胰腺中的胰 岛当量比例（IEQ/g 胰 腺，见 6.3）				
评价				

*胰岛等级见下表。

记算员：_____

日期：_____

审核人：_____

日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：32/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

注意：胰岛质量等级

根据以下参数和标准来判断胰岛质量级别：

参数	0 分	1 分	2 分
形状 (3D)	扁平	介于两者之间	圆球形
边缘 (2D)	不规则	介于两者之间	很圆整
完整性	都是碎片	介于两者之间	结实/紧实
单细胞数量	很多	有一些	几乎无
直径	全部<100 μm	一些>200 μm	超过 10%的组织> 200 μm

累加每个样品的分数来得到以下胰岛质量等级：

- 1) 9-10 分=A 级
- 2) 7-8 分=B 级
- 3) 4-6 分=C 级
- 4) 2-3 分=D 级
- 5) 0-1 分=F 级

11.0 胰岛的培养

11.1 为了进行纯化后胰岛质量评价，必须在此取>400 IEQ 的高纯度 (H) 的胰岛至另一培养皿中，与剩余的高纯度胰岛组织相同培养，进行培养前胰岛体外葡萄糖刺激试验，并将结果报告于 14.4 中。

同样取高纯度胰岛进行培养前胰岛 DNA 含量和核物质含量测定，填写下表，并记录于 20 章节中。

质量检验	IEQ	IEQ/ml	移取样品体积 (ml)
样品—产量低	400	1000	0.4 ml
样品—产量高	400	5000	0.08 ml
中间产品质量分析			
培养前胰岛葡萄糖刺激试验 (必须)	400		
胰岛质量分析 (可选)			
培养前 DNA 含量	3*100		
培养前核物质测定	3*100		
取样员：	日期：		
审核员：	日期：		

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：33/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

11.2 按照每个培养皿 10000-30000 IEQ 的胰岛数量计算所需的 T-175 培养皿，使用下面的公式：

不同纯度的 $IEQ/[(10000-30000 \text{ IEQ/皿}) * \text{纯度} (\text{十进制小数})] = \text{T-175 培养皿数目}$

纯度等级	总共 IEQ	纯度	目标 IEQ/皿	所需 T-175 培养皿数目
举例—高纯度	352423	0.95	27500 (常用 16000)	13.48988, 约为 14 个
举例—中等纯度	53817	0.50	25000 (常用 16000)	4.30536, 约为 5 个
高纯度				
中等纯度				
低纯度				
计算员：	日期：			
审核员：	日期：			

11.3 准备计算量所需的 T-175 细胞培养皿，并检查是否有裂缝等，做好标记。

操作员：_____ 日期：_____

11.4 根据 11.2 将计算量的胰岛组织按照设定的浓度转移到每个培养瓶中，各加至 30ml Culture Media。

	所需培养皿数目	培养液用量 (30 ml/皿)	已有组织液体积 (10.2)	需外加或去除培养液体积
举例—高纯度	14	420 ml	100 ml	+320 ml
举例—中等纯度	5	150 ml	120 ml	+30 ml
举例—低纯度	2	60 ml	100 ml	-40 ml
高纯度				
中等纯度				
低纯度				
取样员：	日期：			
审核员：	日期：			

11.5 对糖刺激样品加入 15 ml culture media (11.1)，稍作培养。

操作员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

11.6 将所有的高纯度 (H) 胰岛放置于 37°C，95%空气，5%CO₂ 培养箱中，记录一阶段#1 开始培养日期和时间 (采用 24h 制记录)，同时记录于 12.5 表格中。

高纯度胰岛一阶段#1 开始培养的日期和时间：_____

操作员：_____ 日期：_____

高纯度胰岛停止培养的时间为开始培养后 12-24 h，在此处及 12.5 处记录并计算数据。

高纯度胰岛第一阶段#1 培养最小的终止日期和时间：_____

高纯度胰岛第一阶段#1 培养最大的终止日期和时间：_____

高纯度胰岛第一阶段#1 培养结束后进行第二阶段#2 的培养，时间为#1 开始之后的 36-72h 之间；计算这些日期和时间，并记录于此处和 12.5 表中。

胰岛编号：_____

高纯度胰岛第二阶段#2 培养最小的终止日期和时间: _____

高纯度胰岛第二阶段#2 培养最大的终止日期和时间: _____

文件编号: SOP 1001	修订编号: 001	起效日: 2015 年 3 月 10 日	申请日: 2015 年 3 月 1 日	页码: 34/58
文件名: 临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

通知项目负责人或设计者这个培养终止的最大时间和最小时间。

被通知人: _____

报告人: _____

报告的时间和日期: _____

11.7 将所有中等纯度 (M) 和低纯度 (L) 的胰岛放置于 22℃, 95%空气, 5%CO₂ 培养箱中, 记录一阶段#1 开始培养日期和时间 (采用 24h 制记录), 同时记录于 12.5 表格中。

中等纯度和低纯度胰岛一阶段#1 开始培养的日期和时间: _____

操作员: _____ 日期: _____

11.8 换液, 第一阶段培养终止时间和日期

11.8.1 经过 12-24h 的培养, 所有的组织都将从培养箱中取出, 作为第一次终止的时间。

操作员: _____ 日期: _____

11.8.2 检查每个培养瓶中的组织初步的外观、有否云雾状、联合或聚集现象; 在显微镜下观察胰岛的外观, 包括胰岛碎片的程度和单细胞的数目; 每个瓶中的液体需做微生物培养。有污染的信号时 (云雾状、显微镜下检查有微生物), 或胰岛形态与正常情况不同, 包括碎片的程度和大量的单细胞存在, 必须马上通知项目的主要负责人, 或设计者, 根据程序探索, 下面记录对污染样品的观察结果和处理结果。

检查员: _____ 日期: _____

如果项目主要负责人或设计者被告知了任何非正常的胰岛外型或微生物污染证据, 则要完成下表:

被告知人姓名: _____

报告人: _____

报告日期: _____

11.8.3 将 culture media 放置于室温下平衡温度, 将培养皿放置于生物安全柜中, 瓶口朝上 45 度角摆放, 允许组织沉淀 2-3min, 无菌状态下往各培养皿中加入新鲜的 Culture Media 各 20ml, 再盖紧培养皿瓶盖;

11.8.4 将全部的培养皿 (高纯度、中等纯度和低纯度) 放置于 22℃, 95%空气和 5%CO₂ 的培养箱中, 记录全部培养皿放入培养箱的时间并记录于 12.5, 为第二阶段#2 培养开始时间。

操作员: _____ 日期: _____

12.0 胰岛为移植作准备

12.1 记录本次胰岛移植的时间表

胰岛移植计划的日期: _____

胰岛移植计划的时间: _____

记录员: _____ 日期: _____

胰岛编号: _____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：35/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

12.2 医生对移植的指令

确认医生是否对移植的有指令（如果有机构使用），如果有的话，则可黏附于此

有 无 （画圈）

医生姓名：_____

审核员：_____ 日期：_____

12.3 受体和供体信息

从文件来源记录了以下受体的信息，可复印其信息粘贴或记录至下表中：

	胰岛受体信息	供体信息
医院名称		
受体医疗记录号		
受体身份证号		
出生日期		
性别		
ABO 血型		
巨细胞病毒（CMV）状态		
过敏（环丙沙星、青霉素等）		
目前体重（kg）		

记录员：_____ 日期：_____

比较 4.4 种的供体信息，并比较如下：

- | | | | |
|------------------|---|---|------|
| 1) 血型是否相配？ | 是 | 否 | （画圈） |
| 2) CMV 状态是否已经核实？ | 是 | 否 | （画圈） |
| 3) 过敏性是否已经核实？ | 是 | 否 | （画圈） |
| 4) 有医生提出的信息吗？ | 是 | 否 | （画圈） |

比较人员：_____ 日期：_____

实验室负责人或设计者

审核员：_____ 日期：_____

12.4 在胰岛移植时间确定前的工作

12.4.1 准备好实验室，包括处理胰岛的生物安全柜，并做好记录。

审核员：_____ 日期：_____

12.4.2 根据附件方法(), 在生物安全柜内配制 Transplant Wash Media 和 Transplant Media, 做好记录, 并将该配好的溶液放置于室温下在使用前平衡温度至室温。

审核员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：36/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

12.5 培养的终止

将所有的培养皿从培养箱中取出，并在下表记录终止第二次培养的时间。

		高纯度	中等纯度	低纯度	记录员	审核员
#1 开始培养时间	日期					
	时间					
#1 停止培养时间	日期					
	时间					
#1 培养时间（Hr:Min）						
#1 最小培养终止时间						
#1 最大培养终止时间						
#2 开始培养时间	日期					
	时间					
#2 停止培养时间	日期					
	时间					
#2 培养时间（Hr:Min）						
#2 最小培养终止时间						
#2 最大培养终止时间						
总的培养时间（Hr:Min）						

第一阶段#1 培养的时间是否在最大和最小培养时间范围内（章节 11.6）

是

否

（画圈）

第二阶段#2 培养的时间是否在最大和最小培养时间范围内（章节 11.6）

是

否

（画圈）

记录员：_____

日期：_____

审核员：_____

日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：37/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

如果上面任何一个问题的回答是“否”，则马上通知实验室负责人或主要设计人。

如果实验室负责人或主要设计人已经被通知了，则需完成下面表格：

被告知人姓名：_____

报告人：_____ 报告日期：_____

12.6 检查每个培养皿中的组织初步的外观、有否云雾状、联合或聚集现象；在显微镜下观察胰岛的外观，包括胰岛碎片的程度和单细胞的数目；每个瓶中的液体需做微生物培养。有污染的信号时（云雾状、显微镜下检查有微生物），或胰岛形态与正常情况不同，包括碎片的程度和大量的单细胞存在，必须马上通知项目的主要负责人，或设计者，根据程序探索，下面记录对污染样品的观察结果和处理结果。

检查员：_____ 日期：_____

如果实验室负责人或主要设计人已经被告知了胰岛有不正常的形态或微生物污染的证据了，则需完成下面表格：

被告知人姓名：_____

报告人：_____ 报告日期：_____

12.7 培养后胰岛的重新混合—高纯度的胰岛

12.7.1 将所有含有高纯度胰岛的 T-175 细胞培养瓶放置于超净台中呈 45° 角，使胰岛沉淀 3-5 min；

12.7.2 当上清液澄清后，仔细转移组织连同培养液约 10ml 至新的标记有“Islet-High purity”的 T-75 培养瓶中；

12.7.3 用 T-175 培养瓶中剩余的 20ml 上清液洗涤每一个 T-175 培养瓶的内表面，然后将这些清洗液转移至一个 250 ml 锥形离心瓶中，标上“Supernatant-High purity”；

12.7.4 使收集到“Islet-High purity”培养瓶中的胰岛沉淀大约 3-5min，从顶部去除上清液使组织混悬溶液剩余至 100 ml(=100 g)，将这些清洗液转移至标有“Supernatant-High purity”的 250 ml 锥形离心瓶中；

12.7.5 将含有“Supernatant-High purity”的 250ml 锥形离心瓶在 2-8 °C 1000 rpm 离心 2min，将沉淀组织加至“Islet-High purity”的 T-75 培养瓶中。

审核员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：38/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

12.8 培养后胰岛的重新混合—中等纯度的胰岛

12.8.1 将所有含有中等纯度胰岛的 T-175 细胞培养瓶放置于超净台中呈 45° 角，使胰岛沉淀 3-5 min；

12.8.2 当上清液澄清后，仔细转移组织连同培养液约 10ml 至新的标记有“Islet-Middle purity”的 T-75 培养瓶中；（可以直接到 250 ml 离心瓶中）

12.8.3 用 T-175 培养瓶中剩余的 20ml 上清液洗涤每一个 T-175 培养瓶的内表面，然后将这些清洗液转移至一个 250 ml 锥形离心瓶中，标上“Supernatant-Middle purity”；

12.8.4 使收集到“Islet-Middle purity”培养瓶中的胰岛沉淀大约 3-5min，从顶部去除上清液使组织混悬溶液剩余至 100 ml (=100 g)，将这些清洗液转移至标有“Supernatant-Middle purity”的 250 ml 锥形离心瓶中；

12.8.5 将含有“Supernatant-Middle purity”的 250ml 锥形离心瓶在 2-8 °C 1000 rpm 离心 2min，将沉淀组织加至“Islet-Middle purity”的 T-75 培养瓶中。

审核员：_____ 日期：_____

12.9 培养后胰岛的重新混合—低纯度的胰岛

12.9.1 将所有含有低纯度胰岛的 T-175 细胞培养瓶放置于超净台中呈 45° 角，使胰岛沉淀 3-5 min；

12.9.2 当上清液澄清后，仔细转移组织连同培养液约 10ml 至新的标记有“Islet-Low purity”的 T-75 培养瓶中；

12.9.3 用 T-175 培养瓶中剩余的 20ml 上清液洗涤每一个 T-175 培养皿的内表面，然后将这些清洗液转移至一个 250 ml 锥形离心瓶中，标上“Supernatant-Low purity”；

12.9.4 使收集到“Islet-Low purity”培养瓶中的胰岛沉淀大约 3-5min，从顶部去除上清液使组织混悬溶液剩余至 100 ml (=100 g)，将这些清洗液转移至标有“Supernatant-Low purity”的 250 ml 锥形离心瓶中；

12.9.5 将含有“Supernatant-Low purity”的 250ml 锥形离心瓶在 2-8 °C 1000 rpm 离心 2min，将沉淀组织加至“Islet-Low purity”的 T-75 培养瓶中。

审核员：_____ 日期：_____

12.10 估计最后每个纯度的 T-75 培养瓶中的沉淀组织的体积

- 1) 将 T-75 培养瓶放置于超净台中呈 45° 角，组织沉淀 3-5 min 至培养瓶的底部；
- 2) 用一个无菌的 10 ml 吸管轻轻吸取全部的组织；
- 3) 垂直持有该吸管 3-5 min，使组织在管中沉淀完全；
- 4) 估计每个纯度的管中沉淀组织的体积，然后将结果记录于下表（12.12）中。

操作员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：39/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

12.11 洗涤组织准备装载至移至袋中

12.11.1 将每一个纯度的估计完体积的胰岛组织（高、中等、低纯度）分别放回至原来的 T-75 培养瓶中，沉淀 3-5 min；

12.11.2 将 T-75 瓶中的上清液转移至一 250ml 离心瓶中，2-8 °C 1000 rpm 离心 2min，去除上清液；

12.11.3 在每一个纯度的 T-75 培养瓶的沉淀组织中加入 100 ml Transplant Wash Media，沉淀 3-5 min，将上清液转移至 12.11.2 的 250ml 离心瓶中；

12.11.4 再次用 100 ml Transplant Wash Media 洗涤沉淀组织，将上清液转移至 12.11.2 的 250ml 离心瓶中；2-8 °C 1000 rpm 离心 2min，去除上清液；将沉淀转移至 T-75 培养瓶；

12.11.5 将每一个含不同纯度组织的 T-75 培养瓶（高、中等、低纯度）用 50-250 ml Transplant Media 混悬，并对每个纯度的组织取上清液根据革兰氏染色方法送至相应的机构进行染色，结果报告与下表 12.12。

纯度级别	高纯度	中等纯度	低纯度
混悬液体积 (ml)			
取样体积 (ml)			
剩余混悬液体积 (ml)			

操作员：_____

日期：_____

审核员：_____

日期：_____

12.12 最终产品的计划

该计划是基于沉淀组织的体积和革兰氏染色结果再记录至下表。决定和记录哪些培养瓶需要合并，若有的话，如下处理：

- 1) 如果总的沉淀组织体积 ≤ 7.5 ml，所有的组织可被混合至 1 个最后的 T-75 培养瓶；
- 2) 每个最终产品 T-75 培养瓶组织的体积 ≤ 7.5 ml；
- 3) 全部最终产品 T-75 培养瓶组织的体积 ≤ 15 ml；

纯度	沉淀组织的体 积(ml)(12.10)	革兰氏染色结 果(12.11.5) *	处理方法：决定哪些培养瓶可以混合或 不混合用于移植，哪些可以用来做研究 或丢弃
高			
中等			
低			
总共		/	/

*这些革兰氏染色结果将由分析机构出具授权报告。

决定员：_____

日期：_____

审核员：_____

日期：_____

如果任何一个纯度的胰岛样品报告了革兰氏阳性结果，则马上通知下实验室负责人或设计者。

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：40/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

如果实验室负责人或设计者被通知了革兰氏阳性结果，则完成下列内容：

被告知人姓名：_____

报告人：_____ 通知日期和时间：_____

12.13 每个纯度的组织取 2 个 100 μ l 组织进行计数，结果记录于下表中。

培养后胰岛的计数

	高纯度 (H)			中等纯度 (M)			低纯度 (L)		
取样体积	μ l			μ l			μ l		
总体积	ml			ml			ml		
稀释倍数									
直径 (μ m), 系数	计数	数 量 (均)	当 量 IEQ	计数	数 量 (均)	当 量 IEQ	计数	数 量 (均)	当 量 IEQ
50-100, 0.167									
101-150, 0.648									
151-200, 1.685									
201-250, 3.500									
251-300, 6.315									
301-350 , 10.352									
>350, 15.833									
取样合计									
胰岛包被例%									
胰岛破碎例%									
胰岛等级*									
计数员签名									

*记录于 12.11.5 的剩余的混悬组织体积。

培养后胰岛的计算

	高纯度 (H)	中等纯度 (M)	低纯度 (L)	总计
培养后胰岛数量 (IPN)				
培养后胰岛当量 (IEQ)				
纯化前胰岛当量 (IEQ) (见 7.5.2)				
胰岛当量回收率 IEQ(%， 相对于纯化前 IEQ)				
纯化后胰岛当量 (IEQ) (见 10.2)				
胰岛当量回收率 IEQ(%， 相对于纯化后 IEQ)				

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：41/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

修剪后每克胰腺中的胰岛当量比例（IEQ/g 胰腺，见 6.3）				
评价				

*胰岛级别的分类请参见 10.2 章节中的注释。

记算员：_____ 日期：_____

审核人：_____ 日期：_____

胰岛纯化后的总量：_____ IEQ

胰岛培养后的总量：_____ IEQ

改变的百分比：_____ %

记算员：_____ 日期：_____

审核人：_____ 日期：_____

如果培养后的胰岛计数量比纯化后的胰岛计数量（章节 10.2）少>30%时，请马上通知实验室的负责人，或设计者。

如果实验室负责人或设计者被通知了培养后胰岛量的减少>30%的结果，则完成下列内容：

被告知人姓名：_____

报告人：_____ 通知日期和时间：_____

12.14 培养后高纯度胰岛混悬液的取样

基于培养后的胰岛计数（12.13），根据下表对高纯度胰岛混悬液进行取样，并在 17.2 和 20.0 章节记录测试结果。

从高纯度胰岛的总 IEQ 和混悬组织的体积（12.13 章节）计算出高纯度胰岛的浓度：

总胰岛当量 IEQ _____ /组织混悬液体积 _____ ml = _____ IEQ/ml

取样量	需要进行的测定/仅用于信息收集	取样体积 (ml)	样品胰岛当量 (IEQ)
混悬液， 400IEQ	培养后糖刺激胰岛素释放指数		
	需要的产品特性/仅用于信息收集		
混悬液， 4000IEQ	体内（裸鼠）胰岛功能		
	可选的产品特性/仅用于信息收集		
混悬液， 3*100IEQ	培养后胰岛的 DNA 含量*		
混悬液， 3*100IEQ	核物质测定*		
混悬液， 500IEQ	ATP/DNA		
混悬液，	OCR/DNA*		

胰岛编号：_____

5000IEQ			
文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日
页码：42/58			
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录			

混悬液， 5000IEQ	分子成型*		
混悬液， 500IEQ	胰岛部分*		
	从高纯度胰岛混悬液中移取的全部组织体积&当量 IEQ		
	取样前高纯度胰岛的体积和当量 IEQ (12.13)		
	剩余的高纯度胰岛的体积&当量 IEQ		

*注意：这些产品可能要送至外面实验室检验。

操作员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

12.15 混合胰岛组织悬液（圈出下面章节中不用的内容）

12.15.1 如果根据计划 12.12，有一个输注用袋子，将所有的胰岛均混合到一个 T-75 培养瓶中，用 Transplant Media 洗涤空的培养瓶，如有必要按照 12.11 章节来混合去除上清液，用 Transplant Media 调整单个的 T-75 培养瓶内的溶液的体积至 100ml。

最后在一个 T-75 培养瓶中的溶液体积：_____ ml。

审核员：_____ 日期：_____

12.15.2 如果根据计划 12.12，需要两个输注用袋子，将所有的胰岛均混合到两个 T-75 培养瓶中，用 Transplant Media 洗涤空的培养瓶，如有必要按照 12.11 章节来混合去除上清液，用 Transplant Media 调整每一个 T-75 培养瓶内的溶液的体积至 100ml。

最后在#1 T-75 培养瓶中的溶液体积：_____ ml

最后在#2 T-75 培养瓶中的溶液体积：_____ ml。

审核员：_____ 日期：_____

12.15.3 如果根据计划 12.12，需要三个输注用袋子，将所有的胰岛均混合到三个 T-75 培养瓶中，用 Transplant Media 洗涤空的培养瓶，如有必要按照 12.11 章节来混合去除上清液，用 Transplant Media 调整单个的 T-75 培养瓶内的溶液的体积至 100ml。

最后在#1 T-75 培养瓶中的溶液体积：_____ ml

最后在#2 T-75 培养瓶中的溶液体积：_____ ml

最后在#3 T-75 培养瓶中的溶液体积：_____ ml。

审核员：_____ 日期：_____

12.16 根据指导程序对进行药物糖刺激胰岛素释放试验和组织样品特性的样品容器记上标记。

记录员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：43/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

12.17 最终 T-75 培养瓶中样品取样和测试

12.17.1 如果根据 12.12 章节不同胰岛纯度的组织进行了合并，则每个最终的 T-75 培养瓶都需要取两个 100 μ l 样品，进行计数和计算，将结果记录如下。如果不同胰岛纯度胰岛没有混合，则使用 12.13 章节中的中等纯度胰岛和低纯度胰岛，12.14 章节中的高纯度胰岛的胰岛当量 IEQ。

最终胰岛产品（混合后）的计数和计算

	最终产品 T-75 培养瓶#1			最终产品 T-75 培养瓶#2			最终产品 T-75 培养瓶#3		
取样体积	μ l			μ l			μ l		
总体积	ml			ml			ml		
稀释倍数									
直径（ μ m）， 系数	计数	数 量 （均）	当 量 IEQ	计数	数 量 （均）	当 量 IEQ	计数	数 量 （均）	当 量 IEQ
50-100, 0.167									
101-150, 0.648									
151-200, 1.685									
201-250, 3.500									
251-300, 6.315									
301-350 , 10.352									
>350, 15.833									
取样合计									
胰岛纯度总级别				/	/		/	/	
胰岛包被例%			/			/			/
胰岛破碎例%			/			/			/
纯度（%）			/			/			/
胰岛等级*			/			/			/
计数员签名									

*参见 10.2 章节胰岛质量等级的指导

最后胰岛总量：_____ IEQ

总 IEQ/g 最终胰腺修剪好的质量（6.3 章节）：_____

记算员：_____

日期：_____

审核员：_____

日期：_____

12.17.2 在 T-75 中的组织填充入输注袋前对混悬液进行取样，并将其送至相应的实验室并按下表进行相关指标测定。在 14.0 和 20.0 章节报告结果和权威机构作出的分析。

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：44/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

如果不同纯度级别的胰岛没有混匀，则使用 12.13 章节中的 IEQ 值来表示中等和低等纯度的胰岛，用 12.14 章节中的 IEQ 值来表示高纯度的胰岛，用 12.15 章节中的混悬液的体积来计算混悬液中胰岛的浓度（IEQ/ml）。

如果不同纯度级别的胰岛已经混匀，则使用 IEQ 值和 12.17.1 章节中混悬液的体积，来计算混悬液中胰岛的浓度（IEQ/ml）。

		T-75#1	T-75#2	T-75#3	
培养瓶中的胰岛 IEQ（12.13，12.14 或 12.17.1）					
培养瓶中的体积（12.15 或 12.17.1）					
胰岛浓度（IEQ/ml）					
样品类型和数量		所取得样品体积（ml）			
授权分析机构的要求	测试	T-75#1	T-75#2	T-75#3	测试实验室
每个 T-75 培养瓶中 100IEQ	活性				
根据操作过程指示需要的每个 T-75 培养瓶中的组织体积	无 菌 性（21CFR610.12）&真菌性培养				
需要的样品性质（仅为获取信息用）					
每个 T-75 培养瓶 1000 IEQ	细胞组成				Miami 大学*
每个 T-75 培养瓶 500-1000 IEQ	MCP-1& 组织因子				Uppsals 大学医院.Sweden*
可选的样品性质（仅为获取信息用）					
每个 T-75 培养瓶 2000 IEQ	β 细胞活性				
每个 T-75 培养瓶中移走的混悬液体积					
取样前每个 T-75 培养瓶中混悬液体积（章节 12.15，或 12.17.1）					
取样后每个 T-75 培养瓶中混悬液体积					
取样后每个 T-75 培养瓶中胰岛的 IEQ					

*根据 CIT 胰岛实验室的指导方法来进行样品的制备和运输，进行细胞组成、MCP-1 和组织因子的分析。

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：45/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

每个 T-75 培养瓶中剩余的 IEQ=取样后每个 T-75 培养瓶混悬液的体积*每个 T-75 培养瓶中胰岛的浓度 (IEQ/ml)

所有的这些样品均来源于这批胰岛混悬液吗？ 是 否 (画圈)

取样员：_____ 日期：_____

计数员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

12.17.3 每个 T-75 培养瓶中移取 1 ml 上清液进行内毒素测试。在 14 章节、下表和授权的分析报告中报告结果。

	T-75#1	T-75#2	T-75#3
剩余的混悬液体积 (12.17.2)			
内毒素样品体积(ml)			
剩下的混悬液体积 (ml)			

注：每个 T-75 培养瓶中剩余的混悬组织体积是用来在 14.5 章节中计算内毒素/kg 用的。

取样员：_____ 日期：_____

计数员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

12.18 取样后，在上面 12.17.2 章节中估计最终产品容器中的组织体积，方法如下：

- (1) 将组织静置 3-5min，使其充分沉淀至每个 T-75 培养瓶底部；
- (2) 轻轻的将所有的组织吸取至 10 ml 的玻璃吸管中；
- (3) 垂直持有玻璃管 3-5min 使组织充分沉淀至玻璃管底部；
- (4) 从玻璃管中估计沉淀的组织体积，在下表中记录结果。

T-75 培养瓶	#1	#2	#3
沉淀的组织体积(ml)			

在中期和最终的授权的分析证明中报告此结果。

审核员：_____ 日期：_____

12.19 在超净台 (BSC) 中按照下面操作方法完成组装标记的胰岛组织袋 (一个或多个)，150 ml 洗涤袋 (一个或多个)，60 ml 针管 (一个或多个)：

- (1) 将 150 ml 洗涤袋的管路连接到 Ricordi 输注袋中；
- (2) 在袋子之间的连接管路两端各用一把止血钳夹闭管路；
- (3) 将注射器针筒放置到一个环形的支架上，去除它的活塞；
- (4) 连接注射器到 Ricordi 输注袋的 Luer 锁住接口；
- (5) 如果最终组织体积需要使用多个袋子，则重复搭建同样的第二和第三个输注袋。

操作员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：46/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

12.20 计算加入的肝素的量

肝素不是产品的一部分，是由受体的医生判断后加至产品中的。

根据受体的体重，随意的在最终的产品中加入 70 Units/kg 受体体重的肝素量。

受体体重（12.3 章节）_____ kg

肝素浓度：_____ units/ml

在输注袋间平均分配肝素的量。

_____ kg × 70 U/kg/_____ #袋子= _____ Units（每个产品袋中加入的肝素量）

_____ Units（每个产品袋中加入的肝素量）/_____ U/ml= _____ ml（每个产品袋中加入的肝素体积）

计算员：_____

日期：_____

审核员：_____

日期：_____

12.21 每一个 T-75 培养瓶中剩余的胰岛组织按照 12.12 混合后装至一个输注袋中，并标记上以下信息：

“人胰岛”、“人胰岛产品”、“Human Islets”、“Human Islets Product”或类似的名称；

胰岛编号

供体身份证（DDD 或 UNOS）号码（与身份识别有关的代码）

供体血型

袋中总的 IEQ

“袋 X/Y”（比如：袋 1/3）

受体姓名（这需要编辑一下以保护受体的机密性）

受体的医疗记录卡号

受体研究 ID#

受体血型

“灭菌测试还没有完成”

“生物危害：人的组织”

“新药，受法律限制，仅用于探索研究”

混悬液体积

生产机构的名称

如果有的话，写上 FDA 注册码

“BB-IND 9336”

贮存温度（15°C-30°C）

“含肝素，袋中的量（Units）：_____”

使用日期：_____, 时间：_____（装载后的 6h 内）

根据本机构的操作要求，可加入额外的信息。

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：47/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

每一个袋子准备三个相同的标签，一个贴袋子上，一个贴到产品的生产批记录的相应的地方，一个贴到受体的治疗记录表的指导附件上。

贴标员：_____ 日期：_____
检查员：_____ 日期：_____

12.22 灌装输注和洗涤袋#1

12.22.1 加入 100 ml Transplant Solution 到输注袋#1, 打开输注袋和洗涤袋中间的管路，将液体从输注袋导至洗涤袋，去除洗涤袋中的全部气体，重新用止血钳夹闭管路；

12.22.2 将培养瓶中的组织加入 100 ml Transplant Solution 通过针筒管转移至输注袋#1；

12.22.3 记录下袋#1 开始灌注的时间：_____

12.22.4 如果产品中要加入肝素，则肝素量已经在 12.21 中计算出了，在这时也输注至袋#1。

加入至袋#1 中的肝素量：_____ Units

加入至袋#1 中的肝素体积：_____ ml

操作员：_____ 日期：_____

12.22.5 加入 50 ml Transplant solution 到 T-75 培养瓶中，洗涤培养瓶的表面，将清洗的溶液也导入至输注袋中。

12.22.6 用另外的 50ml Transplant solution 到 T-75 培养瓶中，再次洗涤培养瓶的表面，将清洗的溶液也导入至输注袋中。当全部的组织输注进入袋中后，将袋中的气泡像“打饱嗝”似的去除，然后用止血钳夹闭入口，避免空气进入袋中。

12.22.7 记录输注袋#1 灌注结束的时间：_____

操作员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

12.23 灌装输注和洗涤袋#2

12.23.1 加入 100 ml Transplant Solution 到输注袋#2, 打开输注袋和洗涤袋中间的管路，将液体从输注袋导至洗涤袋，去除洗涤袋中的全部气体，重新用止血钳夹闭管路；

12.23.2 将培养瓶中的组织加入 100 ml Transplant Solution 通过针筒管转移至输注袋#2；

12.23.3 记录下输注袋#2 开始灌注的时间：_____

12.23.4 如果产品中要加入肝素，则肝素量已经在 12.21 中计算出了，在这时也输注至袋#2。

加入至袋#2 中的肝素量：_____ Units

加入至袋#2 中的肝素体积：_____ ml

操作员：_____ 日期：_____

12.23.5 加入 50 ml Transplant solution 到 T-75 培养瓶中，洗涤培养瓶的表面，将清洗的溶液也导入至输注袋中。

12.23.6 用另外的 50ml Transplant solution 到 T-75 培养瓶中，再次洗涤培养瓶的表面，将清洗的溶液也导入至输注袋中。当全部的组织输注进入袋中后，将袋中的气泡像“打饱嗝”似的去除，然后用止血钳夹闭入口，避免空气进入袋中。

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：48/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

12.23.7 记录输注袋#1 灌注结束的时间：_____

操作员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

12.24 填充输注和洗涤袋#3

12.24.1 加入 100 ml Transplant Solution 到输注袋#3, 打开输注袋和洗涤袋中间的管路, 将液体从输注袋导至洗涤袋, 去除洗涤袋中的全部气体, 重新用止血钳夹闭管路;

12.24.2 将培养瓶中的组织加入 100 ml Transplant Solution 通过针筒管转移至输注袋#3;

12.24.3 记录下袋#3 开始灌注的时间：_____

12.24.4 如果产品中要加入肝素, 则肝素量已经在 12.21 中计算出了, 在这时也输注至袋#1。

加入至袋#3 中的肝素量：_____ Units

加入至袋#3 中的肝素体积：_____ ml

操作员：_____ 日期：_____

12.24.5 加入 50 ml Transplant solution 到 T-75 培养瓶中, 洗涤培养瓶的表面, 将清洗的溶液也导入至输注袋中。

12.24.6 用另外的 50ml Transplant solution 到 T-75 培养瓶中, 再次洗涤培养瓶的表面, 将清洗的溶液也导入至输注袋中。当全部的组织输注进入袋中后, 将袋中的气泡像“打饱嗝”似的去除, 然后用止血钳夹闭入口, 避免空气进入袋中。

12.24.7 记录输注袋#3 灌注结束的时间：_____

操作员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

12.25 仔细检查每一个输注袋, 确保他们的完整性, 没有渗漏, 标签清晰, 内容物是淡黄色到琥珀色, 每个袋中的胰岛也是可见, 这些观察结果将报告至中间产品的授权检查和分析。

每一个输注袋子都符合这些标准吗?

袋#1: 是 否 (圈一个)

袋#2: 是 否 (圈一个)

袋#3: 是 否 (圈一个)

如果任何一个输注袋不符合这些标准, 则必须马上通知实验室的负责人, 或者设计者, 他们也必须马上根据本单位的程序进行原因的追查。根据 DAITSOP3200 指示, 还要给 CMC MC 报告一个偏差。

操作员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

如果实验室负责人, 或者设计者被通知了一个输注袋中的组织没有符合标准, 则完成下面的内容:

被通知人的姓名：_____

报告的人：_____

报告的日期和时间：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：49/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

12.26 按以下操作将胰岛输注袋放置于一个冷藏的容器中：

- (1) 吸收剂
- (2) 室温的包装
- (3) 温度监测器
- (4) 输注装置

操作员：_____

日期：_____

审核员：_____

日期：_____

13.0 本产品批记录的记录文件清单

13.1 需要的溶液和介质记录准备

批记录中的章节	DAIT SOP3106	溶液和介质的准备记录	已经提供？	
			是	否
5.4	B01	Digestion solution		
5.8.1	B11	酶溶液配制-Serva 的酶		
5.8.2	B13	酶溶液配制-VitaCyte 的酶		
5.8.3	B14	酶溶液配制-Roche 的酶		
7.4.1	B02	Purification solution		
7.4.1	B12	Wash solution		
8.1	B10	Purification Density Gradients		
9.1	B10	Purification Density Gradients(如果要准备 OptiPrep Supplementary Purification)		
10.1	B04	Culture solution		
12.4.2	B05	Transplant wash solution		
12.4.2	B06	Transplant solution		

确认人：_____

日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：50/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

13.2 要求的列表：

批记录中的章节	列表	已经提供？	
		是	否
3.1.2	参与此操作过程的人员签字		
3.1.4	灭菌记录		
3.1.5	设备		
3.1.6	可任意处理的记录		

确认人：_____ 日期：_____

13.3 要求的测试报告：（在本记录中前面没有记录的结果）

批记录中的章节	测试报告	已经提供？	
		是	否
12.11.6	葛兰氏菌染色		
12.18.2	最终产品的活性		
12.18.2	最终产品的内毒素		
12.18.2	培养前样品的糖刺激胰岛素释放		

确认人：_____ 日期：_____

13.4 补充的纯化记录（如果已进行了操作）

批记录中的章节	DAIT SOP3109	补充的纯化记录	已经提供？	
			是	否
9.1	B01	补充的纯化记录，OptiPrep 操作		
9.2	B02	补充的纯化记录，连续的 Biocoll 操作		
9.3	B03	补充的纯化记录，不连续的聚蔗糖操作		

确认人：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：51/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

13.5 额外的记录

批记录中的章节	额外的记录	已经提供？	
		是	否
3.2, &12.4.1	实验室和生物安全柜的准备记录		
12.12	医生对移植的指令（如果有的话）		
12.21	产品输注袋的标签		
	全部的偏差或相矛盾的探索报告（如果有的话）		

确认人：_____ 日期：_____

14.0 移植前的测试结果

14.1 从上面的章节 12.17.1, 12.17.2, 12.17.3 和 12.18 抽取的样品的测试结果，把结果写在下表：

最终产品输注袋	#1	#2	#3	总共
沉淀组织的体积 (ml) * (章节 12.18)				
输注袋中混悬液的体积 (ml) * (章节 12.22, 12.23, 12.24)				
胰岛鉴别 (是/否) * (章节 12.17.1)				
输注袋中的胰岛量 (IEQ/kg) * (章节 12.17.2)				
胰岛量 (IEQ/kg) * (在下面章节 14.2 中有计算)				
胰岛浓度 (IEQ/ml 组织) * (在下面章节 14.3 中有计算)				
平均葡萄糖刺激胰岛素释放指数 (高纯度胰岛, 11.1 章节取得培养前的样品) (在下面章节 14.4 中有计算) *				
活性 (%) * (来源于活性测试报告)				
内毒素浓度 (EU/ml) (来源于内毒素测试报告)				
内毒素 (EU/kg 受体体重) * (在下面章节 14.5 中计算)				

*这些结果也在中间和最终的授权的分析报告中报告。

14.2 计算每一个 T-75 培养瓶中的胰岛量 (IEQ/kg) 和每一个输注袋中胰岛的总量 (IEQ) 和受体体重 (kg)，记录于下表和上面章节 14.1:

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：52/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

胰岛总量 (IEQ): _____/受体体重 (kg): _____=胰岛量 (IEQ/kg)

最终的 T-75 培养瓶	胰岛当量 (IEQ) (章节 12.17.2)	受体体重 (kg) (章节 12.3)	胰岛量 (IEQ/kg)
1			
2			
3			
		总量	

记录与计算人: _____ 日期: _____

审核人: _____ 日期: _____

14.3 计算每一个 T-75 培养瓶中的胰岛浓度、从胰岛当量计算的总当量和章节 14.1 中沉淀组织的体积, 记录于下表和上面章节 14.1:

胰岛总量 (IEQ): _____/沉淀组织体积 (ml): _____=胰岛浓度 (IEQ/ml 组织)

最终的 T-75 培养瓶	胰岛当量 (IEQ)	沉淀组织的体积 (ml)	胰岛浓度 (IEQ/ml)
1			
2			
3			
总量			

如果输注袋超过一个, 则要计算总的 IEQ/ml, 计算时先分别累加 IEQ 和 ml, 然后再相除。

记录与计算人: _____ 日期: _____

审核人: _____ 日期: _____

14.4 葡萄糖刺激胰岛素释放试验结果 (培养前的样品)

高纯度胰岛	刺激指数 1	刺激指数 2	刺激指数 3	平均刺激指数
纯化前样品 (章节 11.1)				

在上面的章节 14.1 中报告平均指数, 并记录于授权的分析报告中。

记录人: _____ 日期: _____

审核人: _____ 日期: _____

14.5 计算每一个 T-75 培养瓶中的每公斤受体体重的内毒素量, 从章节 14.1 中的内毒素浓度 (EU/ml) 计算每公斤受体体重的总的内毒素量, 章节 12.17.3 中的剩余的混悬液体积 (ml), 和 12.3 章节中受体体重, 记录于下表和上面章节 14.1:

胰岛内毒素浓度 (EU/ml) × 混悬液体积 (ml) / 受体体重 (kg) = EU/kg 受体体重

胰岛编号: _____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：53/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

最终的T-75培养瓶	内毒素浓度 (EU/ml)	混悬液体积(ml) (章节 12.17.3)	受体体重 (kg) (章节 12.3)	EU/kg
1				
2				
3				
			总量	

记录与计算人：_____ 日期：_____

审核人：_____ 日期：_____

15.0 移植前批记录审核和中间过程的批准

当本生产批记录全部的操作和记录到这点的时候,在本次胰岛移植前,实验室的技术员、负责人、操作管理员或设计者,必须审核下这个批记录以确保到此时为止记录的完整性和准确性。

我们已经审核了本次生产的批记录,并确认了它到这时是完整的和准确的:

操作技术员: _____ 日期: _____

实验室负责人、操作管理员或设计者: _____ 日期: _____

16.0 胰岛产品的运输监护

16.1 如果本机构操作程序要求,可将胰岛已经准备好可以移植的信息通知临床团队。

被通知人姓名: _____

报告人姓名: _____

报告日期和时间: _____

16.2 运输监护记录

如果本机构操作程序有要求,则完成填写原始的和复制的机构产品运输监护记录。

操作员: _____ 日期: _____

16.3 临床团队要审核产品输注袋标签,以确保受体和 UNOS 或 DDD 号码的准确无误(见章节 12.3)。将身份确认信息报告到中间和最终的授权的分析报告上。

UNOS 或 DDD 号码正确? 是 否 (画圈)

受体信息正确? 是 否 (画圈)

操作员: _____ 日期: _____

审核员: _____ 日期: _____

17.0 移植后测试结果和报告

17.1 无菌测试结果

17.1.1 记录 21CFR610.12 无菌测试的 24 h 和最终的测试结果,保存溶液(章节 5.1)的真菌培养结果至下表中(当结果有了的时候)。

胰岛编号: _____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：54/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

保存溶液	24 h 结果		最终的结果	
	无菌性	真菌培养	无菌性	真菌培养
#1				

如果有一个结果阳性，则记录下微生物（群）的鉴别结果：_____

记录员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

17.1.2 记录从最终 T-75 培养瓶产品中取样的 21CFR610.12 无菌测试的最终测试结果和真菌培养的结果至下表中，并将这些结果报告于最终的授权分析的报告中（当结果有了的时候）。

T-75 培养瓶中的 最终产品	24 h 结果		最终的结果	
	无菌性	真菌培养	无菌性	真菌培养
#1				
#2				
#3				

如果有一个结果阳性，则记录下微生物（群）的鉴别结果：_____

记录员：_____ 日期：_____

审核员：_____ 日期：_____

如果有任何阳性结果发现，则马上通知参与的医生。

被告知的医生姓名：_____

报告员：_____ 日期：_____ 时间：_____

17.2 葡萄糖刺激胰岛素释放结果（培养后样品）

高纯度胰岛	刺激指数 1	刺激指数 2	刺激指数 3	平均刺激指数
培养后样品（章节 12.14）				

将平均指数报告并记录于授权的分析报告中。

记录人：_____ 日期：_____

审核人：_____ 日期：_____

17.3 需要的测试报告（在本生产记录中以前没有记录的结果）

批记录章节	测试报告	是否已经提供	
		是	否
5.1	保存液的无菌性		
12.14	最终产品的糖刺激胰岛素释放		
12.17.2	最终产品的无菌性		

审核员：_____ 日期：_____

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：55/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

18.0 产品的处理

胰岛产品移植了吗？ 是 否 （画圈）

如果产品已经被移植了，记录受体研究编号#：_____

如果该产品，或者它的任何部分，没有用于移植，解释下为何没有移植和阐述下它最终的处理方式：_____

记录员：_____ 日期：_____

19.0 移植后批记录的审核和最终的批准

完成了上述章节 16、17 和 18 后，实验室的技术员、实验室负责人、操作管理员或者设计者必须审核这些章节来确认这些记录的完整性和正确性。

我们已经审核了章节 16、17 和 18，并已经确认了这些记录的完整性和正确性。

操作技术员：_____ 日期：_____

实验室负责人、操作管理员或设计者：_____ 日期：_____

质量评价机构的一个有资格的代表必须审核全套的批记录，来确认其完整性和正确性。

我已经审核了全套的批记录，并已经确认了它记录的完整性和正确性。

质量评价机构代表：_____ 日期：_____

20.0 产品特性测试结果（仅为收集信息用）

在下表中记录下面一些测试的结果，并将原始文件进行拷贝附与本记录后，“FPTF”意思是最终的 T-75 培养瓶。

批记录章节	需要的产品特性	结果
5.7	胰腺组织检查：MCP-1	
5.7	胰腺组织检查：组织因子	
12.14	体内胰岛功能（裸鼠体内试验）	高纯度胰岛：_____ （高血糖逆转，或没有逆转）
12.17.2	细胞组成试验（激光扫描血细胞计数&免疫荧光）	FPTF#1, β 细胞：_____% δ 细胞：_____% α 细胞：_____% PP 细胞：_____% FPTF#2, β 细胞：_____% δ 细胞：_____% α 细胞：_____% PP 细胞：_____% FPTF#3, β 细胞：_____% δ 细胞：_____% α 细胞：_____% PP 细胞：_____%

胰岛编号：_____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：56/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

12.17.2	最终产品的 MCP-1	FPTF 1: _____ FPTF 2: _____ FPTF 3: _____
12.17.2	最终产品的组织因子	FPTF 1: _____ FPTF 2: _____ FPTF 3: _____

批记录章节	可选择的产品特性	结果
11.1	培养前 DNA 含量	高纯度胰岛: _____ μ g DNA
11.1	培养前核物质测定	_____ nuclei
12.14	培养后 DNA 含量	高纯度胰岛: _____ μ g DNA
12.14	培养后核物质测定	_____ nuclei
12.14	ATP/DNA 比例	_____
12.14	OCR/DNA	_____ nmol O ₂ /min/mg DNA
12.14	分子表达谱	_____
12.14	胰岛分数	_____
12.17.2	β 细胞活性 (流失细胞计数)	FPTF #1: _____ % FPTF #2: _____ % FPTF #3: _____ %

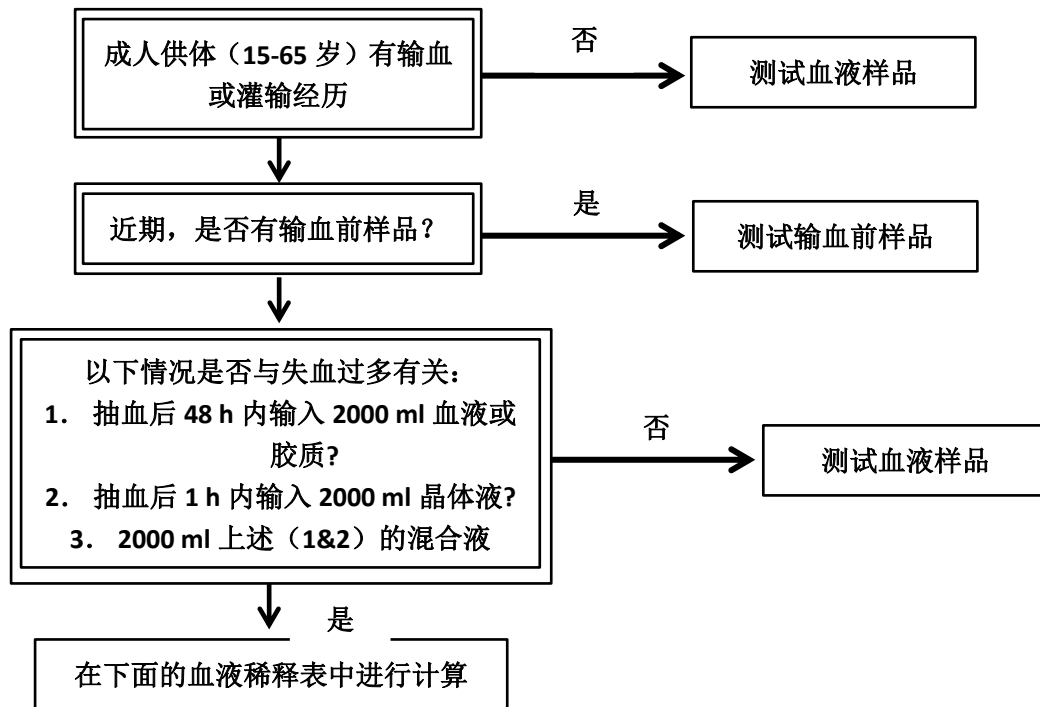
记录员: _____ 日期: _____
审核员: _____ 日期: _____

胰岛编号: _____

文件编号： SOP 1001	修订编号：001	起效日：2015 年 3 月 10 日	申请日：2015 年 3 月 1 日	页码：57/58
文件名：临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

血液稀释流程图

适合于感染性疾病的供体样品测试的流程图



定义：

1. 血液或血液成分：由物理或机械方法从捐赠者血液中分离的任何成分。
2. 胶体：蛋白质或多聚糖溶液，可以用来增加或维持血管内成分的渗透压（胶体渗透压），如白蛋白、右旋糖酐、羟乙基淀粉；或者某些血液成分，如血浆或血小板。
3. 晶体溶液：平衡盐和/或葡萄糖溶液，用来电解质替代或增加血管内体积，如生理盐水、乳酸林格氏液或 5%葡萄糖水溶液。

文件编号: SOP 1001	修订编号: 001	起效日: 2015 年 3 月 10 日	申请日: 2015 年 3 月 1 日	页码: 58/58
文件名: 临床人胰岛分离、纯化专业生产批记录				

血液稀释工作表

指导说明: 下列情况下使用该工作表: (1) 当没有可用输血前的样本可用和 (2) 由于输血或输液的原因需要确定是否输血后的样品适用于由于输血传染病的检测。

供体 UNOS# _____ 日期: _____

取样日期和时间	a.m. p.m.
供体体重 (kg)	kg
血浆体积 (PV)	供体重量 (kg): _____/0.025=_____ ml
血液体积 (BV)	供体重量 (kg): _____/0.015=_____ ml
A. 输血总体积/48 h 1 单位包装红细胞=250 ml 输血的日期和时间	红细胞输入/48 h: _____ ml 全血输入/48 h: _____ ml 再造的血输入: _____ ml A 的总量: _____ ml
B. 输胶体总体积/48 h 1 单位新鲜冷冻血浆 (FFP) =250 ml 1 单位提取的血小板=225 ml 1 个血小板池=300 ml 输血的日期和时间	右旋糖酐/48 h: _____ ml 血浆/48h: _____ ml 血小板/48h: _____ ml 白蛋白/48 h: _____ ml 羟乙基淀粉/48 h: _____ ml 另外 (): _____ ml 另外 (): _____ ml B 的总量: _____ ml
C. 输注的晶体溶液的总体积/1 h	生理盐水: _____ ml 葡萄糖水溶液: _____ ml 乳酸钠林格氏液: _____ ml 另外 (): _____ ml 另外 (): _____ ml C 的总量: _____ ml
D. 适用性的判断 B _____ ml + C _____ ml = _____ ml A _____ ml + B _____ ml + C _____ ml = _____ ml	1. B+C>PV? (画圈) 是 否 2. A+B+C>BV? (画圈) 是 否 如果 1 和 2 的回答都是否, 则测试下样品; 如果 1 或 2 的回答是是, 则拒绝此供体。

测试血液样品? (画圈) 是 否

供体是否适用? (画圈) 是 否

记录员: _____ 日期: _____

审核员: _____ 日期: _____