

文書番号 HHS-01-03	第1回細胞数計測及び培地交換の 手順書および記録書	改定番号	1
		3頁の内 3頁	
製造番号: U-2 OS -	製造年月日: 年 月 日	承認:	

逸脱記録: _____

日付 年 月 日

作業者 _____

記録者 _____

培地交換

1. 培養細胞の培地交換

- ピペット(10mL)を用いて 10mL の培地を吸引し廃液用ストレージボトル(250mL)に移し廃棄する。
FBS 入り DMEM 培地をピペット(25mL)を用いて 10mL ずつ加える。
- 37°C, 5% CO₂ インキュベーター内に静置する。

逸脱記録: _____

日付 年 月 日

作業者 _____

記録者 _____

文書番号 HHS-01-04	第2回細胞数計測及び倍加時間の 算出の手順書および記録書	改定番号	1
		3頁の内 1頁	
製造番号: U-2 OS -	製造年月日: 年 月 日	承認:	

試薬・器材の準備

* 安全キャビネット内に入れる

試薬	容量	メーカー	物品番号	数量	備考
<input type="checkbox"/> * FBS入りDMEM	500mL	Hyclone	SH30396.03	1	
<input type="checkbox"/> * TrypLE Select	100mL	GIBCO	12653-011	1	
<input type="checkbox"/> トリパンブルー溶液	100mL	Wako	207-17081	1	
器材	容量	メーカー	物品番号	数量	備考
<input type="checkbox"/> * ピペットエイド		ファルコン		1	
<input type="checkbox"/> マイクロピペット	200uL	Gilson	P-200	1	
<input type="checkbox"/> マイクロピペット	1000uL	Gilson	P-1000	1	
<input type="checkbox"/> 滅菌イエローチップ		BM機器	BM3040	1箱	
<input type="checkbox"/> 滅菌ブルーチップ		BM機器	BM3070	1箱	
<input type="checkbox"/> * ピペット	2mL	BD Falcon	356507	2	
<input type="checkbox"/> * ピペット	5mL	BD Falcon	356543	3	
<input type="checkbox"/> * ピペット	10mL	BD Falcon	356551	1	
<input type="checkbox"/> * 遠沈管	15mL	旭テクノグラス	2325-015	2	
<input type="checkbox"/> * 遠沈管	50mL	旭テクノグラス	2345-050	1	検査用培地回収用
<input type="checkbox"/> * ストレージボトル	250mL	Corning	431431	1	廃液用
<input type="checkbox"/> * 滅菌チューブ(1.5mL)		Eppendorf	0030 121.589	4	2本を安全キャビネット内に入れる
<input type="checkbox"/> セルカウントプレート		OneCell	OC-C-S02	1	
<input type="checkbox"/> カウンター					
<input type="checkbox"/> 計算機					
<input type="checkbox"/> はさみ					
<input type="checkbox"/> マジック					
<input type="checkbox"/> * チューブ立て 15mL用				1	
<input type="checkbox"/> * チューブ立て 50mL用				1	
<input type="checkbox"/> * チューブ立て 1.5mL用				1	
<input type="checkbox"/> * 注射器	10mL	テルモ		1	
<input type="checkbox"/> * 注射針	18G	ニプロ	01-001	1	
<input type="checkbox"/> * エンドトキシン用チューブ				1	
<input type="checkbox"/> 滅菌敷布				1	
<input type="checkbox"/> ワイプ				1包	
<input type="checkbox"/> 70%アルコールスプレー				1	
<input type="checkbox"/> オートクレーブバッグ	Lサイズ			1	
<input type="checkbox"/> 記録書					

器材	滅菌年月日
<input type="checkbox"/> チューブ立て 15mL用×1, 1.5mL用×1	_____
<input type="checkbox"/> チューブ立て 50mL用×1	_____

日付 _____ 年 _____ 月 _____ 日

確認者 _____

文書番号 HHS-01-04	第2回細胞数計測及び倍加時間の 算出の手順書および記録書	改定番号	1
		3頁の内 2頁	
製造番号: U-2 OS -	製造年月日: 年 月 日	承認:	

第2回細胞数計測（播種後 ____日目）

1. 細胞の観察

- 培養皿を顕鏡し細胞を観察する。そのうち 2 枚を細胞数計測に用いる。

2. 培地の吸引 開始時刻： ____ 時 ____ 分

- ピペット(10mL)で培地を吸引し培地検査用遠沈管(50mL)に移す。この培地をシリンジ(10mL)でエンドトキシン検査用チューブに入れる。

- 回収培地 HHS-01-04-

逸脱記録: _____

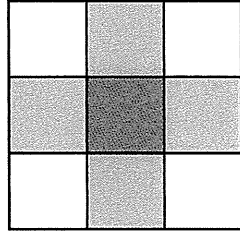
3. 培養皿からの細胞解離

- TrypLE Select をピペット(5mL)で 5mL ずつ加え、CO₂ インキュベーター内に 5 分静置する。
- 顕微鏡視下に培養皿から細胞が剥がれたのを確認する。（細胞が剥がれていない場合は、再びインキュベーター内に静置する。）
- 遠沈管(15mL)、滅菌チューブ(1.5mL)に必要事項を記入する。
- ピペット(5mL)で培養皿の表面を洗うようにして細胞懸濁液を回収し、遠沈管(15mL)に移す。
- 細胞懸濁液を十分攪拌する。

文書番号 HHS-01-04	第2回細胞数計測及び倍加時間の 算出の手順書および記録書	改定番号	1
		3頁の内 3頁	
製造番号: U-2 OS -	製造年月日: 年 月 日	承認:	

4. 生細胞数の測定

- 細胞懸濁液をピペット(2mL)で滅菌チューブ(1.5mL)に約 0.2mL 分注する。ここから細胞懸濁液を 100uL 採取し、滅菌チューブ(1.5mL)の中でトリパンプルー100uL と攪拌する(2 倍希釈)。セルカウントプレートを用いて生細胞数(染色されていない細胞)を計測する。



ディッシュ — 1

1mL あたりの生細胞数

= + + + / 4 × 2 × 10⁴ = _____ 個/mL

生細胞数 = 1mLあたりの細胞数 × 5mL 合計 _____ 個

ディッシュ — 2

1mL あたりの生細胞数

= + + + / 4 × 2 × 10⁴ = _____ 個/mL

生細胞数 = 1mLあたりの細胞数 × 5mL 合計 _____ 個

逸脱記録: _____

日付 _____ 年 _____ 月 _____ 日

作業者 _____

記録者 _____

	X日目の細胞数 (q1)	Y日目の細胞数 (q2)	q2/q1	PD	X日目とY日目の時間の差 (t2-t1)
例	1000	5000	5	2.32192809	48
1	5.75	28.83	5.0139	2.32593698	48
U-2 OS-1	1	2.9	2.9	1.5360529	42
U-2 OS-2	2.422	6.85	2.8282	1.49990512	43.4
U-2 OS-3	2.04	6.2	3.0392	1.60369906	42.75
U-2 OS-4	1.793	4.715	2.6297	1.39488228	44.5
U-2 OS-5	1.59	5.588	3.5145	1.81330526	43.42
U-2 OS-6	1.95	5.6	2.8718	1.5219527	43.45
U-2 OS-7	0.885	4.5625	5.1554	2.3660752	43.7
U-2 OS-8	1.63	5.33	3.2699	1.70926357	43.22

doubling time

(時間)

20.67247479

20.63684464

27.34280831

28.93516352

26.65712101

31.90233366

23.94522371

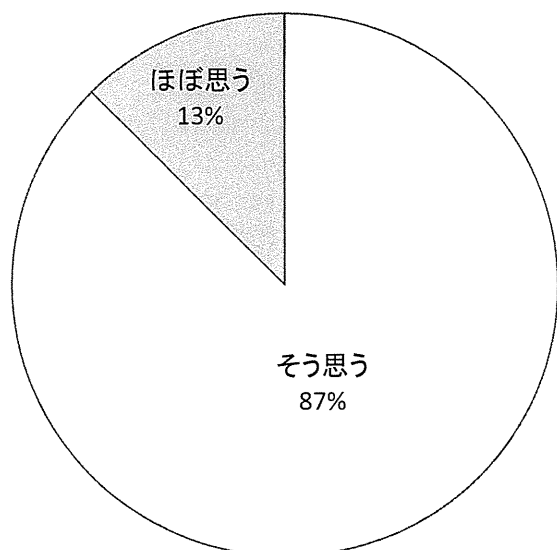
28.54885037

18.46940453

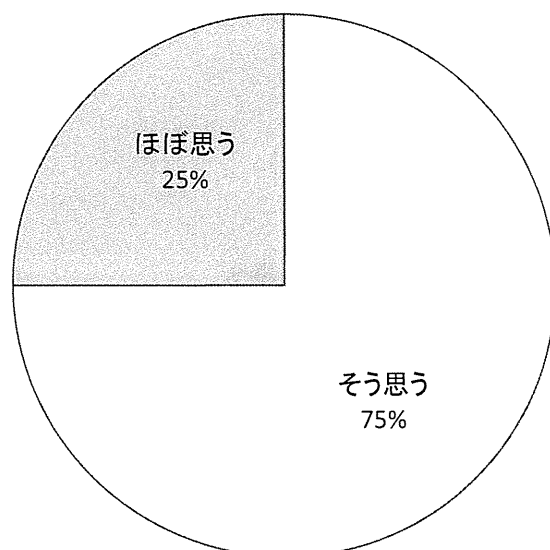
25.2857434

細胞育成学実践論アンケート

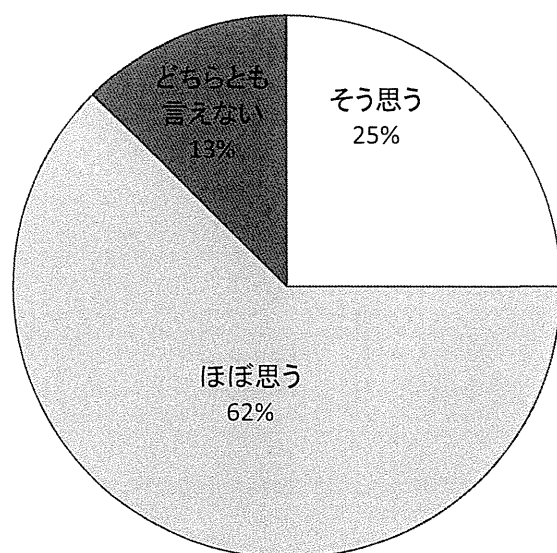
将来の進路(就職)に役立つような知識
や考え方を得る事ができましたか



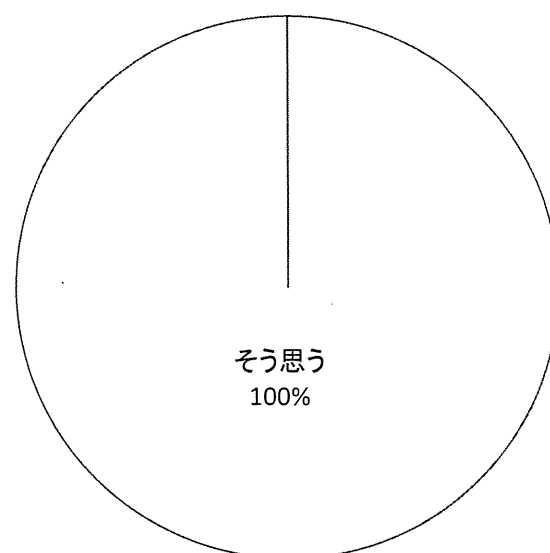
教員は、学生が理解できるような説明を
していましたか



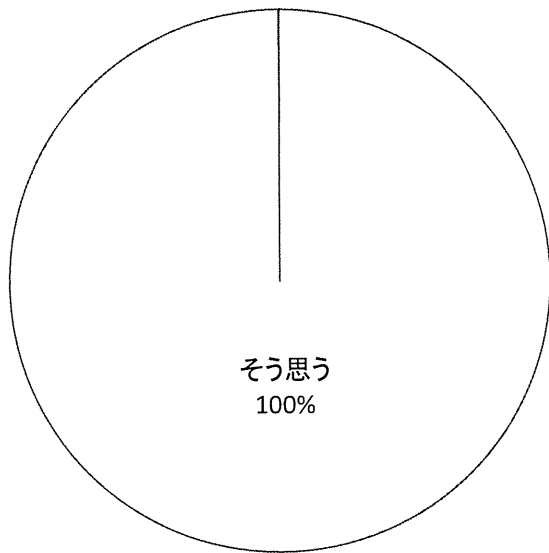
実習によって細胞治療の概要がおよそ
イメージできましたか



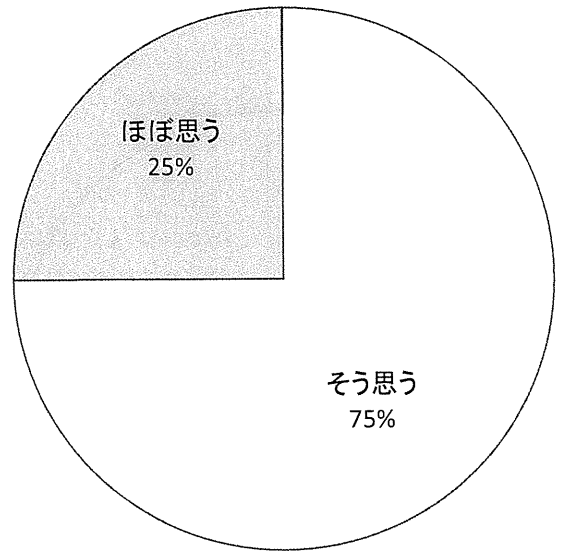
知的な好奇心が刺激されるなど、より自主
的に学習をしたいと思う講義でしたか



来年度もこのような内容の実習を希望しますか



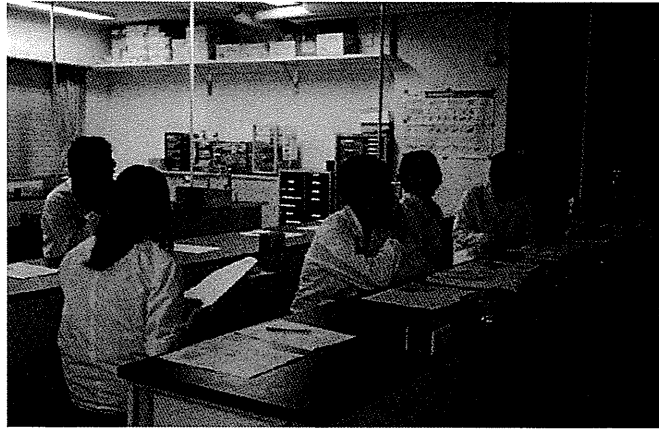
知的好奇心が刺激されるなど、より自主的に学習をしたいと思う講義でしたか



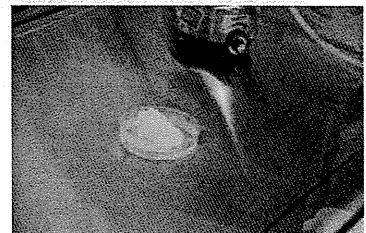
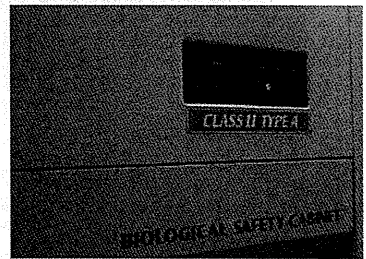
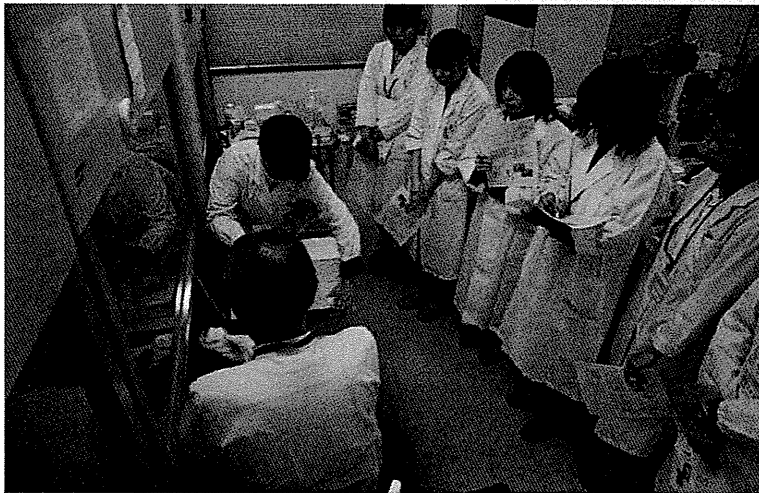
細胞育成学実践論 2012 実習風景

【一日目：1月23日（月）】

ガイダンス



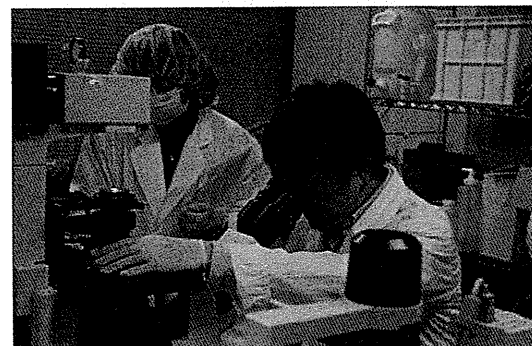
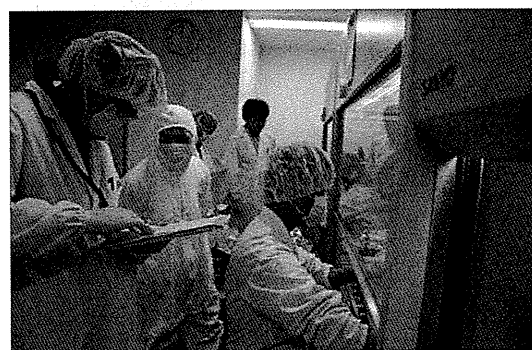
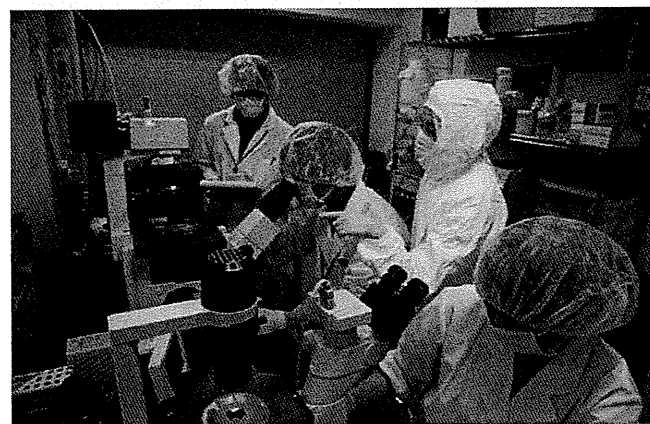
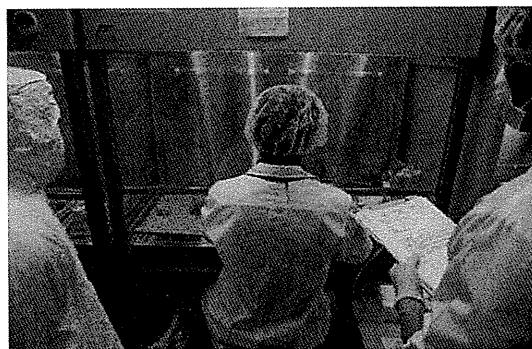
機器講習



ロットチェック



培養実習

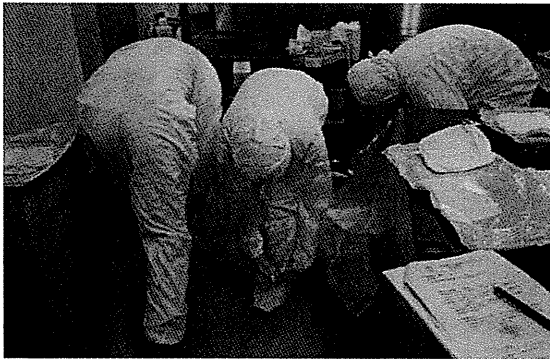


【二日目：1月25日（水）】

エンドトキシン測定実習

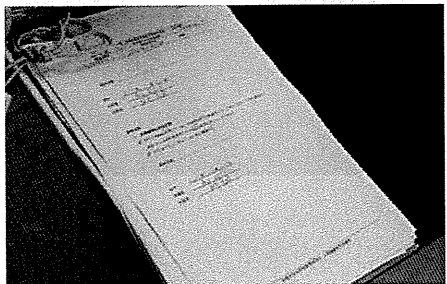
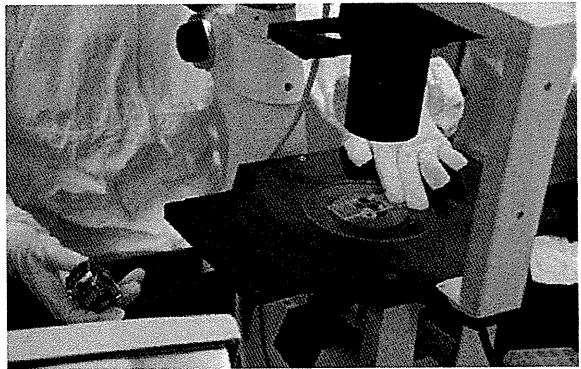
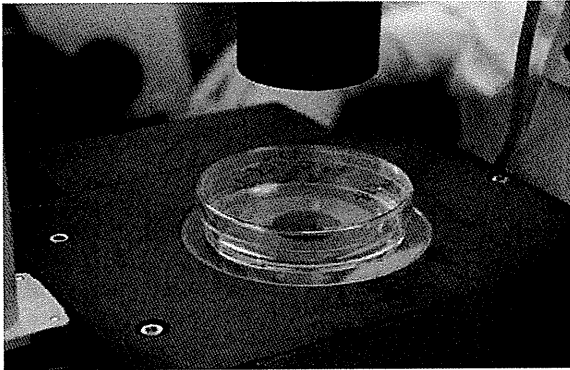
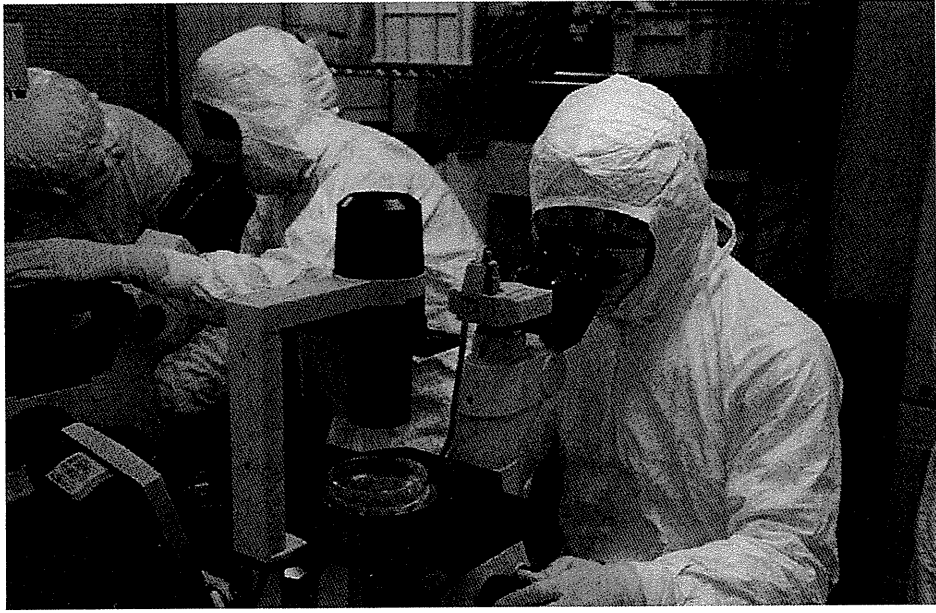


無塵衣装着訓練



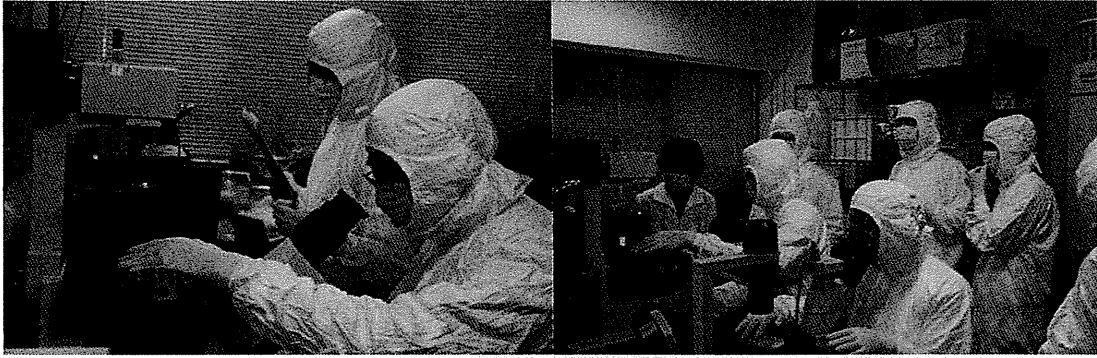
培養実習



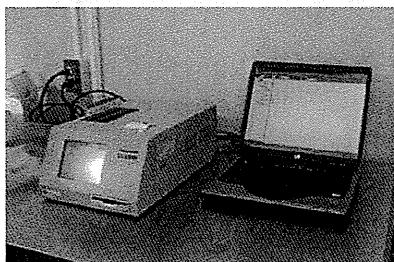
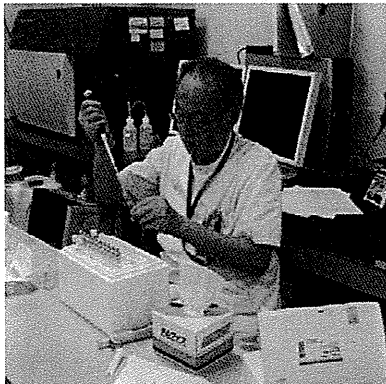


【三日目：1月27日（金）】

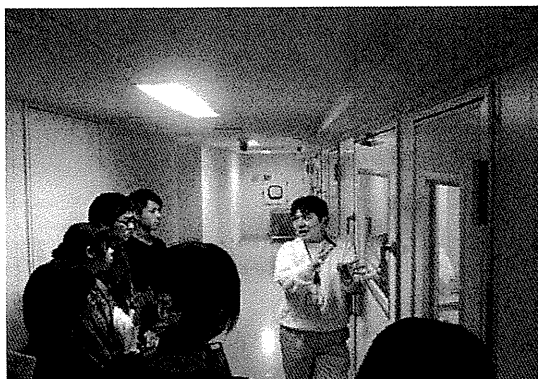
細胞培養実習



エンドトキシン測定実習



FiT (CPC)見学

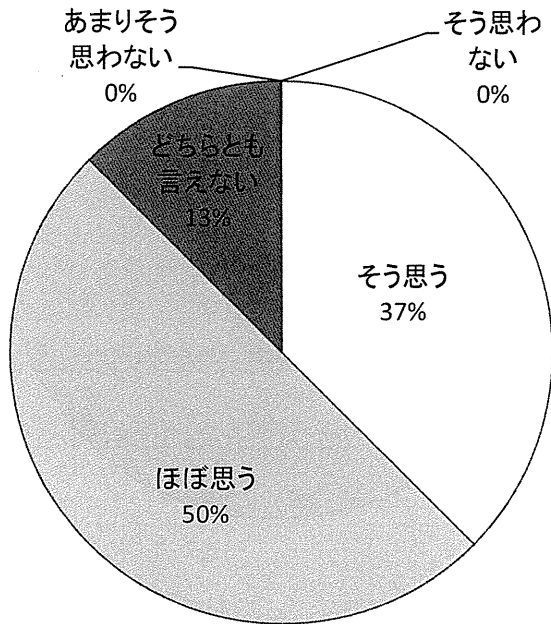


まとめ、総括

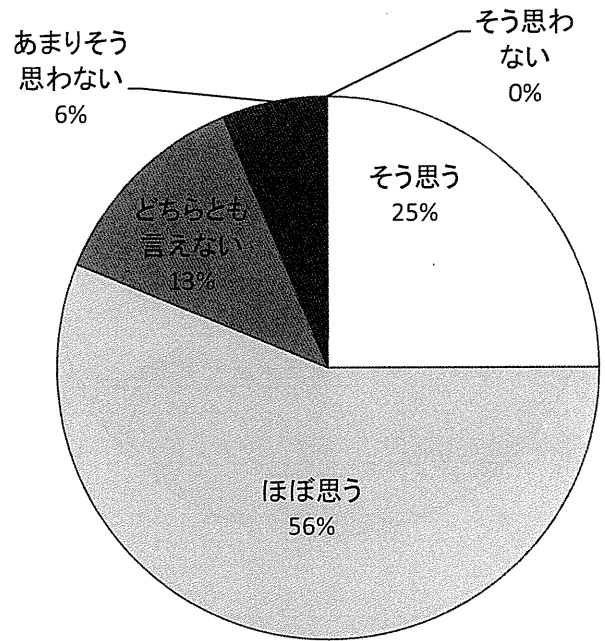


細胞育成学連続講義アンケート

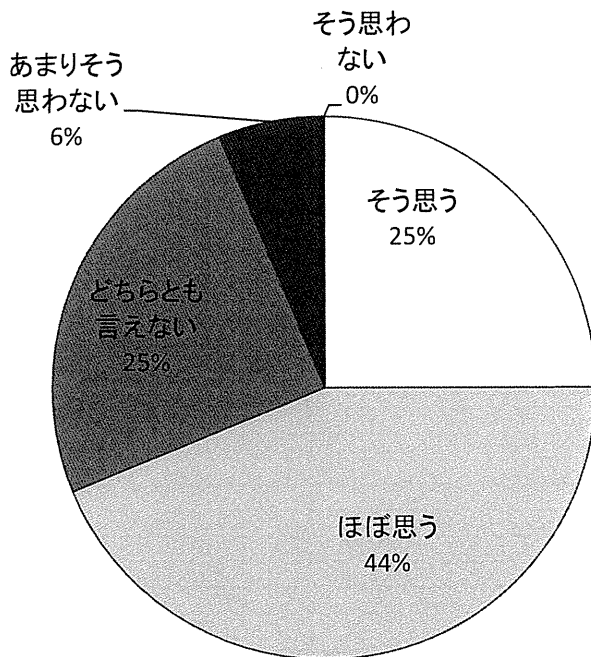
あなたはこの授業を受け、さらに深く勉強
したいと思いましたか



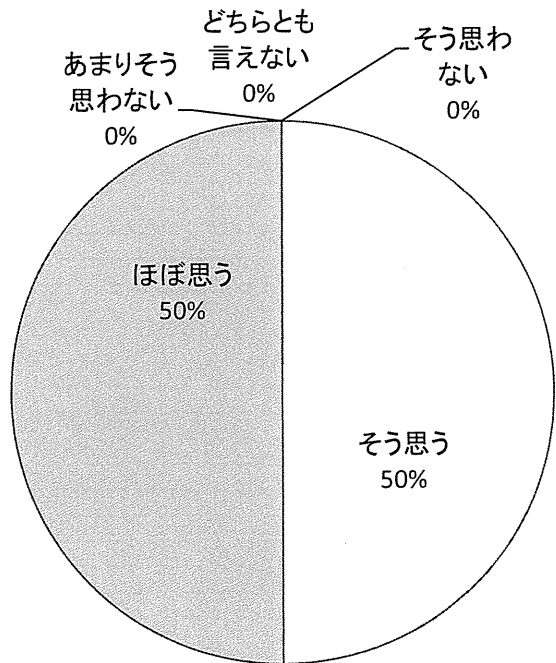
あなたはこの授業の内容を理解できまし
たか



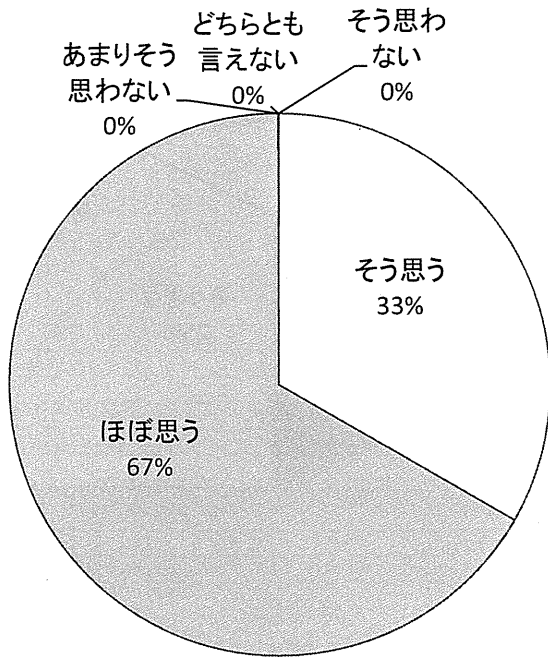
将来の進路(就職)に役立つような知識や
考え方を得る事ができましたか



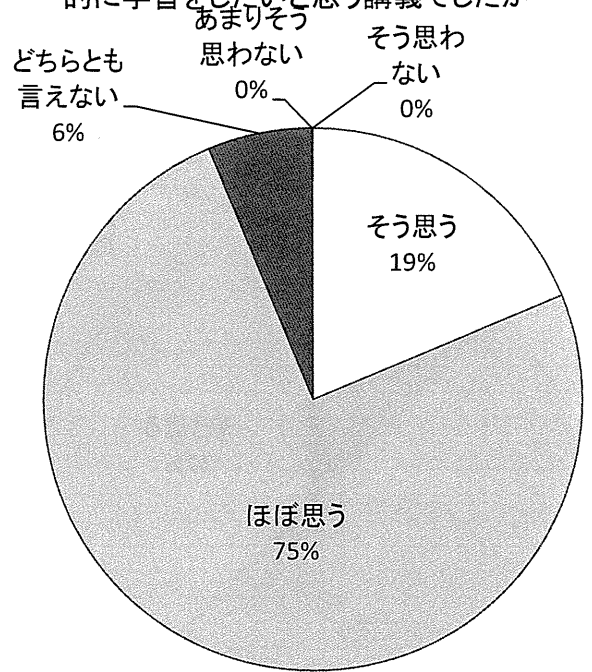
知的好奇心が刺激されるなど、より自主
的に学習をしたいと思う講義でしたか



講師は、学生が理解できるような説明をしていましたか



知的好奇心が刺激されるなど、より自主的に学習をしたいと思う講義でしたか



細胞育成学連続講演会 2012

第一回（10月5日）

前川 平 京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部 教授

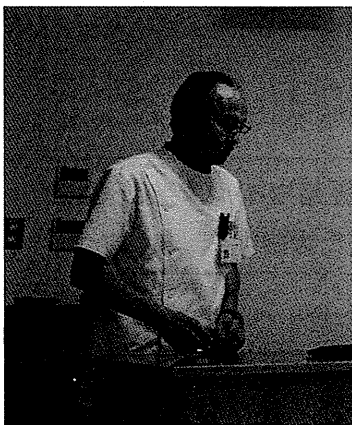
講演名：京都大学における細胞治療・再生治療開発への挑戦～概論～



第二回（10月12日）

笠井泰成 京都大学医学部附属病院 分子細胞治療センター 主任技師

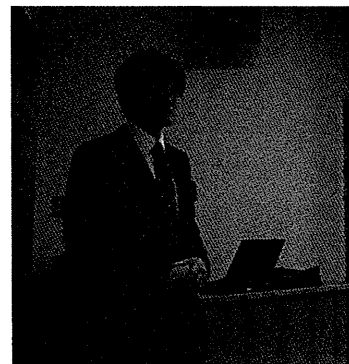
講演名：細胞治療における臨床検査技師の役割



第三回（10月19日）

伊藤達也 京都大学医学部附属病院 探索医療センター 助教

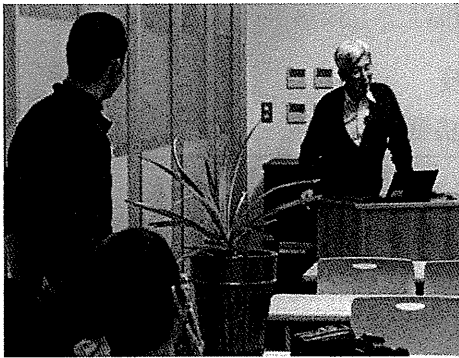
講演名：治験、臨床試験に関わる規制について



第四回 (10月26日)

岩田 博夫 京都大学再生医科学研究所 教授

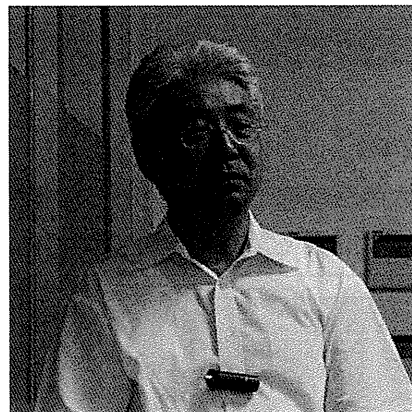
講演名：人工材料への細胞の接着



第五回 (11月2日)

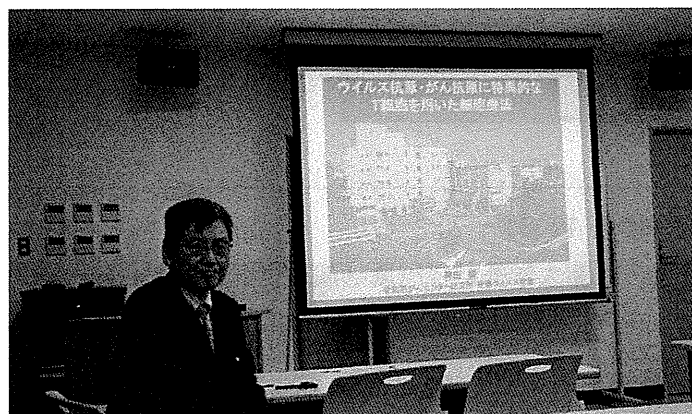
川真田 伸 (財)先端医療振興財団 再生医療支援グループ GL

講演名：CPCの運営コストと事業化について -神戸での取り組み-

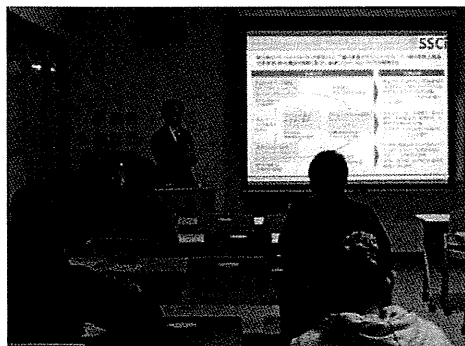


第六回 (11月9日) 神田 輝 愛知がんセンター研究所・腫瘍ウイルス学部 室長

講演名：ウイルス抗原・がん抗原に特異的なT細胞を用いた細胞療法



第七回（11月16日）仙石 慎太郎 京都大学 細胞－物質統合拠点（iCeMS）准教授
講演名：幹細胞の品質評価・安定培養技術とイノベーション



第八回（11月30日）森本 尚樹 京都大学医学部附属病院 形成外科 講師
講演名：自家培養真皮を用いた皮膚潰瘍治療



第九回（12月7日）門脇 則光 京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科 准教授
講演名：癌免疫療法としての細胞療法



第十回 (12月14日) 青井 貴之 京都大学 iPS細胞研究所 教授
講演名: 細胞治療に向けた iPS細胞の現状と課題



第十一回 (12月21日) 井家 益和
(株) ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング 製品開発部 部長
講演名: ヒト細胞を組み込んだ日本初の再生医療製品の開発



第十二回 (1月11日) 一山 智 京都大学医学部附属病院 検査部 教授
講演名: 免疫不全患者における感染症の診断と治療

