

ペレットの UV ランプ を点灯する。

7.9.2. 記録担当者はゴミを回収した後、P2 ルーム 1 で体が触れた場所をエタノールおよび不織布で清拭し、無菌検査用の培地と共に退室する。

7.9.3. 作業担当者は P2 ルーム 1 の床をエタノールおよび不織布で清拭したのち、退室する。

7.9.4. 作業担当者はゴミをオートクレーブ にかけた後、前室を退室する。

6. 指図記録書の保管

記録済みの指図記録書は、製造工程責任者が承認し、品質管理責任者が確認した後、保管ファイルに 10 年間保管する。

7. SOP 逸脱時の対応

SOP 逸脱時の手続きに関する手順書に従い、逸脱報告書に必要な事項を記載し、品質管理者に報告する。

8. 関連する書類

品質マニュアル (KVPC-QM-01)、衛生管理基準書 (KVPC-H-00)、角膜上皮シート製品標準書 (KVPC-PMFOPH-01)、原材料分注および管理工程指図記録書 (KVPC-PMFOPH-01-001-01-R01 から R29)

別紙
改訂版 SOP 案
KVPC-PMFOPH01-004

Fibrin coat well 作成に関する手順書

制定 2009 年 06 月 01 日
施行 2009 年 06 月 01 日
改定案策定 2011 年 11 月 01 日

承認	確認	作成
坪田一男 印	榛村重人 印	宮下英之 印

慶応義塾大学 医学部 眼科学教室

改正履歴表

改正番号	年月日	改正内容	改正理由	承認
01	2009/6/01	機器、文書フォーマット等を生理学 CPC から KVPC 準拠へ	KVPC の CPC を用いるため	
02	2011/11/01	作業者分担範囲の明記、手順の簡略化、手順詳細の指図記録書への移動	現状に合わせた改正	

目次

No. 内容

表紙、変更履歴

目次

1. 目的
2. 適応範囲
3. 責任体制
4. 遵守事項
5. 作業者の分担範囲
6. 使用するもの
7. Fibrin coat well 作成工程の手順
8. 指図記録書の保管
9. SOP 逸脱時の対応
10. 関連する書類

1 目的

品質マニュアル (KVPC-QM-01)、製造管理基準書 (KVPC-P-00)、衛生管理基準書 (KVPC-H-00) および角膜上皮シート製品標準書 (KVPC-PMFOPH-01) に基づき、原材料の分注および管理工程の手順を定める。

2 適応範囲

品質マニュアル・衛生管理基準書に従って、CPC 内で作業する従事者に本手順書を適用する。本手順書においては、CPC とは Keio Vector Processing Center (KVPC) を指す。

3 責任体制

品質マニュアルに定めるように、Project 責任者が製造部門責任者および品質部門責任者を監督し、製造部門責任者が指示記録書の発行、製造記録の作成、原材料の保管管理、出納、ならびにその記録に対して責任と権限を有し、品質管理者が試験結果判定の責任と権限を有する。

4 遵守事項

品質マニュアル・衛生管理基準書を遵守する。

5 作業者の分担範囲

作業工程は、作業担当者と記録担当者の 2 人 1 組で行う。作業担当者と記録担当者は日によって担当を替えても良い。ただし、無菌性を担保するため、P2 ルーム 1 入室していったん作業を開始した後は、P2 ルーム 1 を退室するまで担当を変更してはならない。

作業担当者は、安全キャビネット内の作業を第一義的に行う。無菌性を担保するため、作業担当者は安全キャビネット起動時に浮遊菌検査を開始し、作業終了後に手指の付着菌検査を実施する。また、安全キャビネット外の物品および滅菌されていないものに触れた場合には、エタノールにより手指を消毒すること。

記録担当者は、指図記録書への記録、および安全キャビネット外に限った作業補助を行う。記録担当者は安全キャビネット内にいかなる部分も入れてはならない。

物品の準備、エタノール噴霧、滅菌不織布による清拭、ラベル添付は手指の汚染を招くため、安全キャビネット外で記録担当者が行う。

6 使用するもの

本工程では角膜上皮シート製品標準書で定められた以下のものを用い、本手順書で指定された手順に従ってこれらを使用する。物品の詳細は指図記録書

KVPC-PMFOPH01-004-R01に記載する。

7 Fibrin coat well 作成工程の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-004-R01に記載する

7.1 居室での指図記録書印刷

7.1.1 本工程の指図記録書をクリーンルーム用印刷用紙に印刷後、オートクレーブ滅菌する。

7.2 指図指示書、2次更衣、浮遊菌付着菌検査用培地、廃棄用オートクレーブバック、およびその他の必要品のサブライ室への持ち込み

7.2.1 エントランスで手指洗浄後、手袋を着用して上記必要品類をエタノール噴霧しながらパストボックスに入れる。(KVPC-PMFOPH01-003)物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。

7.3 サブライ室への入室

7.3.1 1次更衣に着替え、サブライ室に入室する。

7.4 ラベルの印刷

7.4.1 細胞保存室に移動し、必要となるラベルを、サコート EX システムを用いて印刷する。

7.5 必要品の持ち込み

7.5.1 必要品を (KVPC-PMFOPH01-003)物品の搬入搬出に関する手順書に従って P1 ルーム 1 に搬入する。

7.6 P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ

7.6.1 安全キャビネットの UV ランプを消灯し、照明及びブローのスイッチを入れる。

7.6.2 浮遊菌検査用培地を左右 2 箇所置き、培地のフタを空ける。

7.7 希釈用溶液（塩化カルシウム含有生理食塩水）の調整

7.7.1 生理食塩水に塩化カルシウム溶液を添加し、1mM 塩化カルシウム・生理食塩水を調整する。

7.8 希釈トロンビン溶液の調整

7.8.1 ボルヒル付属の調整キットを用い、粉末トロンビンを融解する (125 U/0.5 mL)

7.8.2 上記トロンビン液 50 uL を、希釈用溶液 4.1 mL に希釈する。

7.9 希釈フィブリノゲン溶液の調整

7.9.1 ボルヒル付属の調整キットを用い、粉末フィブリノゲンを融解する (0.5 mL)

7.9.2 上記フィブリノゲン液を、希釈用溶液 6.2 mL に希釈する。

7.10 フィブリンゲルの作成

7.10.1 セルカルチャーインサートのフタを空ける

7.10.2 1000 μ Lピペットを用いて、インサートx1に希釈トリピン液を100 uL 乗せる

7.10.3 別の1000 μ Lピペットを用いて、希釈フィブリン液100 uLを希釈トリピン液に加える。

7.10.4 セルスクレイパーを用いて手早く混合し、インサート面に塗布する

7.10.5 以上の工程をインサートごとに繰り返す

7.11 フィブリンゲルの保存

7.11.1 ユニパックで密閉し、冷蔵庫FR03に冷蔵保存する。

7.12 退室

7.12.1 作業担当者は左右手指及び安全キャビネット中央の付着菌検査を行ったのち、安全キャビネットの前面ガラスドアを閉めてグローを切り、安全キャビネットのUVランプを点灯する。

7.12.2 記録担当者はゴミを回収した後、P2ルーム1で体が触れた場所をエタノールおよび不織布で清拭し、無菌検査用の培地と共に退室する。

7.12.3 作業担当者はP2ルーム1の床をエタノールおよび不織布で清拭したのち、退室する。

7.12.4 作業担当者はゴミをオートクレーブにかけた後、前室を退室する。

8 指図記録書の保管

記録済みの指図記録書は、製造工程責任者が承認し、品質管理責任者が確認した後、保管ファイルに10年間保管する。

9 SOP逸脱時の対応

SOP逸脱時の手続きに関する手順書に従い、逸脱報告書に必要な事項を記載し、品質管理者に報告する。

10 関連する書類

品質マニュアル (KVPC-QM-01)、衛生管理基準書 (KVPC-H-00)、角膜上皮シート製品標準書 (KVPC-PMFOPH-01)、Fibrin coat well 作成工程指図記録書 (KVPC-PMFOPH01-004-01-R01)

別紙

改訂版 SOP 案

KVPC-PMFOPH01-006

ドナー角膜輪部組織の品質確認手続きに関する手順書

制定 2009 年 06 月 01 日

施行 2009 年 06 月 01 日

改定案策定 2011 年 11 月 01 日

承認	確認	作成
坪田一男 印	榛村重人 印	宮下英之 印

慶応義塾大学 医学部 眼科学教室

改正履歴表

改正番号	年月日	改正内容	改正理由	承認
01	2009/6/01	機器、文書フォーマット等を生理学 CPC から KVPC 準拠へ	KVPC の CPC を用いるため	
02	2011/11/01	ドナースクリーニング情報確認手順への項目追加	ヒト幹細胞研究新指針に合わせた改正	

目次

No. 内容

表紙、変更履歴

目次

1. 目的
2. 適応範囲
3. 責任体制
4. 遵守事項
5. ドナー角膜輪部組織の品質確認手順
 - 5.1. ドナー角膜のドナースクリーニング情報確認手段
 - 5.2. ドナー角膜の微生物検査試験手順
 - 5.3. ドナー角膜の細胞数および生存率測定手順
6. 品質検査書の保管
7. SOP 逸脱時の対応
8. 関連する書類
9. 付図 1: ドナー角膜輪部組織の品質確認手続きに関する工程作業フロー図

1. 目的

品質マニュアル・衛生管理基準書に基づき、ドナー角膜輪部組織の品質を確認するための手続きに関する工程の手順を定める。

2. 適応範囲

品質マニュアル・衛生管理基準書に従って、CPC 内外で角膜上皮シート作成に従事する者に本手順書を適用する。本手順書においては、CPC とは Keio Vector Processing Center (KVPC)を指す。

3. 責任体制

品質マニュアルに定めるように、Project 責任者が製造部門責任者および品質部門責任者を監督し、製造部門責任者が指示記録書の発行、製造記録の作成、原材料の保管管理、出納、ならびにその記録に対して責任と権限を有し、品質管理者が試験結果判定の責任と権限を有する。

4. 遵守事項

品質マニュアル・衛生管理基準書を遵守する。

5. ドナー角膜輪部組織の品質確認手順

ドナー角膜輪部組織の品質を確認するための手続きに関する工程作業は、付図 1:ドナー角膜輪部組織の品質確認手続きに関する工程作業フロー図のとおり行う。

5.1. ドナー角膜のドナースクリーニング情報確認手順

ドナースクリーニング情報を慶應義塾大学眼球銀行のドナー選択基準に順じて確認し、以下の項目に当たる場合はドナー角膜の使用を禁忌とする。なお死因が悪性腫瘍であるドナーに関しては、以下の項目に該当しない場合でもなるべく使用を避ける。ウエストナイルウイルスに関しては、以下の項目 5.1.3 及び 5.1.5 に包括される。ドナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01 に結果を記録する。

- 5.1.1. 原因不明の死
- 5.1.2. 原因不明の中樞神経系疾患
- 5.1.3. 活動性ウイルス脳炎および、原因不明の脳炎、進行性脳症
- 5.1.4. 亜急性硬化性全脳炎、進行性多巣性白質脳炎等の遅発性ウイルス感染症
- 5.1.5. 細菌、真菌、ウイルス性全身性活動性感染症
- 5.1.6. HIV 抗体、HTLV-1 抗体、HBs 抗原、HCV 抗体が陽性

- 5.1.7. Creutzfeldt-Jakob 病およびその疑い
- 5.1.8. 白血病
- 5.1.9. 悪性リンパ腫 (Hodgkin 病、非 Hodgkin リンパ腫)
- 5.1.10. Reye 症候群
- 5.1.11. 眼内悪性腫瘍

5.2. ドナー角膜の微生物検査試験手順

5.2.1. 検体

検体にはドナー角膜保存液を用いる。

5.2.2. 検体採取手順

ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程に関する指図指示書 KVPC-PMFOPH01-023-R1 に従い検体を採取する。

5.2.3. 検体委託手順

微生物検査委託手続きに記載のとおり検体を委託する。

5.2.4. 微生物検査合格基準

微生物検査合格基準は、細菌検査 (好気性、嫌気性、真菌、マイコプラズマ) 陰性、ウイルス検査 (HCV, HBV, HIV-1, HTLV-1 プロウイルス, パルボウイルス) 陰性、エンドトキシン 25EU/ml 以下とする。結果はドナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01 に記録する。

5.3. ドナー角膜の細胞数および生存率測定手順

ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程に関する手順書 KVPC-PMFOPH01-023 及び指図指示書 KVPC-PMFOPH01-023-R1 に従い、角膜上皮細胞分離時の生細胞数および死細胞数を色素排除法によって計測し、同指図指示書 KVPC-PMFOPH01-023-R1 及びドナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01 に記録する。この際、生存率 50%以上のものを適正として使用する。

6. 品質検査書の保管

全ての項目を記録したドナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01 は、製造工程責任者が承認し、品質管理責任者が確認した後、コピーを一部作成し、原本を KVPC が、コピーを慶應義塾大学眼科学教室が 10 年間保管する。

7. SOP 逸脱時の対応

SOP 逸脱時の手続きに関する手順書に従い、逸脱報告書に必要な事項を記載し、品質管理者に報告する。

8. 関連する書類

衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書、トナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01-02、トナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程に関する手順書 KVPC-PMFOPH01-023 及び指図記録書 KVPC-PMFOPH01-023-R1

別紙

改訂版 SOP 案

KVPC-PMFOPH01-007

角膜上皮シートの回収・包装・出荷に関する手順書

制定 2009 年 06 月 01 日

施行 2009 年 06 月 01 日

改定案策定 2011 年 11 月 01 日

承認	確認	作成
坪田一男 印	榛村重人 印	宮下英之 印

慶応義塾大学 医学部 眼科学教室

改正履歴表

改正番号	年月日	改正内容	改正理由	承認
01	2009/6/01	機器、文書フォーマット等を生理学 CPC から KVPC 準拠へ	KVPC の CPC を用いるため	
02	2011/11/01	作業者分担範囲の明記、手順の簡略化、手順詳細の指図記録書への移動	現状に合わせた改正	

目次

No. 内容

表紙、変更履歴

目次

1. 目的
2. 適応範囲
3. 責任体制
4. 遵守事項
5. 作業者の分担範囲
6. 使用するもの
7. 角膜上皮シート回収・包装・出荷工程の手順
8. 参考文献
9. SOP 逸脱時の対応
10. 関連する書類

付図 1:角膜上皮シート回収・包装工程作業フロー図

1. 目的

品質マニュアル・衛生管理基準書に基づき、CPC 内での角膜上皮シート回収・包装・出荷工程の手順を定める。本手順書においては、CPC とは Keio Vector Processing Center (KVPC)を指す。

2. 適応範囲

品質マニュアル・衛生管理基準書に従って、CPC 内で作業する従事者に本手順書を適用する。

3. 責任体制

品質マニュアルに定めるように、Project 責任者が製造部門責任者および品質部門責任者を監督し、製造部門責任者が指示記録書の発行、製造記録の作成、原材料の保管管理、出納、ならびにその記録に対して責任と権限を有し、品質管理者が試験結果判定の責任と権限を有する。

4. 遵守事項

品質マニュアル・衛生管理基準書を遵守する。

5. 作業者の分担範囲

作業工程は、作業担当者と記録担当者の 2 人 1 組で行う。作業担当者と記録担当者は日によって担当を替えても良い。ただし、無菌性を担保するため、P2 ルーム 1 入室していったん作業を開始した後は、P2 ルーム 1 を退室するまで担当を変更してはならない。

作業担当者は、安全キャビネット内の作業を第一義的に行う。無菌性を担保するため、作業担当者は安全キャビネット起動時に浮遊菌検査を開始し、作業終了後に手指の付着菌検査を実施する。また、安全キャビネット外の物品および滅菌されていないものに触れた場合には、エタノールにより手指を消毒すること。

記録担当者は、指図記録書への記録、および安全キャビネット外に限った作業補助を行う。記録担当者は安全キャビネット内にいかなる部分も入れてはならない。

物品の準備、エタノール噴霧、滅菌不織布による清拭、ラベル添付は手指の汚染を招くため、安全キャビネット外で記録担当者が行う。

6. 使用するもの

本工程では角膜上皮シート製品標準書で定められたものを用いる。物品の詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-002-R01-03 に記載する。

7. 角膜上皮シートの回収・保存・出荷工程の手順

角膜上皮シートの回収・保存工程作業は、指図記録書 **KVPC-PMFOPH01-002-R01-03** に従って行う。なお包装用培地の作成は、移植 1 日前に上皮シート包装培地調整工程に関する指図記録書 **KVPC-PMFOPH01-028-R01-03_**にしたがって行う。

6.1. 指示記録書、出荷判定書コピー、および納品書の保管

記録済みの指図記録書は、製造工程責任者が承認し、品質管理責任者が確認した後、保管ファイルに 10 年間保管する。

7. 参考文献

旭テクネイク株式会社 検体管理システムソフトウェア操作マニュアル

8. SOP 逸脱時の対応

SOP 逸脱時の手続きに関する手順書に従い、逸脱報告書に必要な事項を記載し、品質管理者に報告する。

9. 関連する書類

衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書

別紙

改訂版 SOP 案

KVPC-PMFOPH01-009

ロット構成に関する手順書

制定:2009年6月01日

施行:2009年6月01日

改定案策定 2011年11月01日

承認	確認	作成
坪田一男 印	榛村重人 印	宮下英之 印

慶応義塾大学 医学部 眼科学教室

改正履歴表

改正番号	年月日	改正内容	改正理由	承認
01	2011/11/01	ロット番号を移植の有無 に関係なく振るよう に 改正	テストランを容易にする ため	

目次

No. 内容

表紙、変更履歴

目次

1. 目的
2. 適応範囲
3. 責任体制
4. 遵守事項
5. ロット構成
 - 5.1. ロット
 - 5.2. ロット番号
 - 5.3. 上皮シートへの付番
 - 5.4. 検体への付番
 - 5.5. 原材料への付番
 - 5.6. 電子ファイル記録への付番
6. SOP 逸脱時の対応
7. 関連する書類

1. 目的

製品の取り違いなどの事故を避け、また効率的にサンプルを管理するため、製品に固有のロット番号を付番する。その付番方法の手順を記述する。

2. 適応範囲

眼科学教室が CPC 内で作成する製品全てに本手順書を適用する。本手順書においては、CPC とは Keio Vector Processing Center (KVPC)を指す。

3. 責任体制

品質マニュアルに定めるように、Project 責任者が製造部門責任者および品質部門責任者を監督し、製造部門責任者が指示記録書の発行、製造記録の作成、原材料の保管管理、出納、ならびにその記録に対して責任と権限を有し、品質管理者が試験結果判定の責任と権限を有する。

4. 遵守事項

品質マニュアル・衛生管理基準書を遵守する。

5. ロット構成

5.1. ロット：本プロジェクト KVPC-OPH-01 では、1 個の角膜輪部組織から 2~3 枚の上皮シートを作成し、うち 1 枚を破壊検査に用い、残りを 1 人の研究被験者に使用する。これを 1 ロットとする。

5.2. ロット番号：培地充填試験（ドライラン）を DR1、角膜上皮シートを LE のものに番号を付番する。ウェットラン 1 回目は LE0 と付番し、以後 LE1、LE2 と付番する。詳細は表 5.2.1. のとおり。なお、MASC に関しては MASC の品質確認手続きに関する手順書（KVPC-PMFOPH-006）を参照のこと。

	ロット番号	原意	注
培地充填試験	DR1	Dry-Run #1	ドライラン
角膜上皮シート	LE0	corneal Limbal Epithelial sheet #0	ウェットラン
	LE1	corneal Limbal Epithelial sheet #1	
	LE2	corneal Limbal Epithelial sheet #2	
	LE3	corneal Limbal Epithelial sheet #3	
	LE4	corneal Limbal Epithelial sheet #4	
	LE5	corneal Limbal Epithelial sheet #5	

	LE6	corneal Limbal Epithelial sheet #6	
	LE7	corneal Limbal Epithelial sheet #7	
	LE8	corneal Limbal Epithelial sheet #8	
	LE9	corneal Limbal Epithelial sheet #9	

表 5.2.1 ロット番号対応表

- 5.3. 上皮シートへの付番：1 ロット中の上皮シート 2 枚を区別する必要がある場合、ロット番号に 6 ウェルプレートの場合番号を付番する。LE12(LE#1 の上皮シート 2)など
- 5.4. 検体への付番：
- 5.4.1. 微生物検査用検体には、上皮シートのロット番号に検体を示す S を続ける。また、採取日の日付を付番する。なお、日付はサコト® EX システムでラベル作成時に自動的に印字される。20090101 LE4S-001 など。
- 5.4.2. 確認検査陽性対照用中央部角膜には、角膜中央を示す CC に、角膜上皮シートと同じ患者さん番号を付番する。LE2 に用いる陽性対照なら、CC1 など
- 5.5. 原材料への付番：原材料には略号と日付を付番する。日付はサコト® EX システムでラベル作成時に自動的に印字される。略号は原材料の分注及び管理工程手順書 (KVPC-PMFPOH01-001) に記載のとおり。
- 5.6. 電子ファイル記録への付番：電子記録ファイルのうち、デジタルカメラ等自動的に付番されるものに関してはそのファイル名を可能な限り変更しない。ただし、自動生成されるファイル名は、そのカメラを使用開始時からの通し番号など、同じ番号が現れないものが望ましい。

6. SOP 逸脱時の対応

SOP 逸脱時の手続きに関する手順書に従い、逸脱報告書に必要な事項を記載し、品質管理者に報告する。

7. 関連する書類

製品標準書 KVPC-PMFOPH01

別紙
改訂版 SOP 案
KVPC-PMFOPH01-010

落下菌および付着菌試験に関する手順書

制定:2009年6月01日
施行:2009年6月01日
改定案策定 2011年11月01日

承認	確認	作成
坪田一男 印	榛村重人 印	宮下英之 印

慶応義塾大学 医学部 眼科学教室