

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 | 培養日数の変更、逸脱 基準の明確化 | 手順の合理化 | |

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. 落下菌試験手順
6. 付着菌試験手順
7. SOP 逸脱時の対応
8. 関連する書類

1. 目的

品質マニュアル・衛生管理基準書・製品標準書に基づき落下菌および付着菌試験に関する手順を定める。

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. 落下菌検査手順

5.1. 使用検査キット

落下菌測定には CASO AGAR (105458TP1049, ムルク) を用いる。

5.2. 測定条件

安全キャビネット BSC01 を用いる全作業工程に渡って、BSC01 の右手 1 箇所、左手 1 箇所に開封した CASO AGAR を培地が上になるように静置する。

5.3. 測定手順

5.3.1. CASO AGAR x2 枚にラベルを貼り付ける。

5.3.2. 当日初めて安全キャビネット BSC01 を用いる際に、ラベルした CASO AGAR を培地が上になる様に、1 個を右手側、もう 1 個を左手側に置き、フタをあける。

5.3.3. 指図記録書に記録する。

5.3.4. 作業終了後に CASO AGAR のフタを閉める。

5.3.5. UV を照射しないよう KVPC から持ち出す。

5.3.6. 慶應義塾大学眼科研究室にて 34℃で培養する。

5.3.7. 培養 4 日目以上、7 日目以内に目視にてコロニー数を確認し、試験成績書に記録する。

5.3.8. コロニーが 1 個以上認められた場合は逸脱として処理し、品質責任

者及び Project 責任者に報告する。

6. 付着菌検査手順

6.1. 使用検査キット

付着菌測定にはペタンチェック 25 (PT8025,栄研器材) を用いる。

6.2. 測定条件

安全キャビネット BSC01 を用いる全ての工程が終了した後に、作業者の右手、左手、および安全キャビネットの中央の付着菌を測定する。

6.3. 測定手順

6.3.1. ラベルをペタンチェック x 3 枚に貼り付ける。

6.3.2. 安全キャビネット BSC01 を用いる全ての工程が終了し、かつ落下菌用のペタンチェックのフタを閉めた後に、右手および左手をそれぞれ別のペタンチェックに押し付け、押し付けた後にフタをする。5 指全てを押し付けること。

6.3.3. 安全キャビネットの中央部にペタンチェックを押し付け、押し付けた後にフタをする。

6.3.4. ペタンチェックの残液を消毒用エタノールを浸した不織布ワイパーで拭き取る。

6.3.5. 指図記録書に記録する。

6.3.6. UV を照射しないよう KVPC から持ち出す。

6.3.7. 慶應義塾大学眼科研究室にて 34℃ で培養する。

6.3.8. 培養 4 日目以上、7 日目以内に目視にてコロニー数を確認し、試験成績書に記録する。

6.3.9. コロニーが 1 個以上認められた場合は逸脱として処理し、品質責任者及び Project 責任者に報告する。

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

製品標準書 KVPC-PMFOPH01、衛生管理基準書、試験成績書 KVPC-PMFOPH01-010-R01

別紙
改訂版 SOP 案
KVPC-PMFOPH01-011

MASC の培地調整に関する手順書

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、使用物品及び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. MASC の培地調整工程の手順
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・衛生管理基準書に基づき、CPC 内での MASC 培地調整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

MASC 凍結細胞からの培養開始工程では、角膜上皮シート製品標準書で定められた物品を用い、本手順書で指定された手順に従って使用する。物品の詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-011-R01 に記載する。

7. MASC 培地調整工程の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-011-R01 に記載する。本工程に連続して、MASC 凍結細胞から培養開始工程 (KVPC-PMFOPH01-021) を行う。

1. 作業概要指図記録書印刷

1. 本工程の指図記録書および MASC 凍結細胞から培養開始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。

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

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ポックスに入れる。(KVPC-PMFOPH01-003)物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。

3. サブライ室への入室

① 1 次更衣に着替え、サブライ室に入室する。

4. ラベルの印刷

① 細胞保存室に移動し、必要となるラベルを、サノコード EX システムを用いて印刷する。

5. 必要品の持ち込み

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。

6. P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ

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。

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. MASC 培地調整

1. alpha-MEM 45 mL に対して抗生剤 500uL を添加する。

2. 上記に対して FBS 5 mL を添加する。

3. よくピペティング後、50mL 遠心管に 9mL を分注する (MASC 解凍用)。

8. MASC 凍結細胞から培養開始工程

1. 本工程に引き続いて、MASC 凍結細胞から培養開始工程を行う。

8. 指図記録書の保管

1. 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

指図記録書 KVPC-PMFOPH01-011-R01、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-PMFOPH01-012

角膜輪部上皮細胞の培地調整に関する手順書

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、組成の一部追加等 | 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. 角膜輪部上皮細胞の培地調整工程の手順
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・衛生管理基準書に基づき、CPC 内での培養輪部上皮細胞の培地調整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

培養輪部上皮細胞の培地調整工程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-PMFOPH01-012-R01 及び R02 に記載する。

7 角膜輪部上皮細胞の培地調整工程の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-012-R01 及び R02 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グ、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、サノコート 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 角膜輪部上皮細胞の培地調整

7.7.1 指図記録書に従い、必要品を混合する。

7.7.2 よくピペッティングした後、15mL チューブ 5 本に 9.5mL ずつ分注

7.7.3 ラベルをチューブおよび指図記録書に貼り付け

7.7.4 分注品を FR03 冷蔵庫へ保存。

7.8 退室

7.8.1 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ブローを切り、安全キャビネットの UV ランプを点灯する。

7.8.2 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。

7.8.3 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。

7.8.4 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。

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

衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書、指図記録書 KVPC-PMFOPH01-012-R01 及び R02

別紙

改訂版 SOP 案

KVPC-PMFOPH01-013

MASC マイトマイン C 処理培地調整に関する手順書

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、組成の一部追加等 | 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. MASC マイトマイン C 処理培地調整工程の手順
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・衛生管理基準書に基づき、CPC 内での MASC マイトマイツ C 処理培地調整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

MASC マイトマイツ C 処理用培地調整工程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-PMFOPH01-014-R01 及び R04（指図記録

書 KVPC-PMFOPH01-013-R は-014-R に統合) に記載する。

7 MASC マイトマイシン C 処理培地調整工程の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-014-R01 及び R04 に記載する。なお、指図記録書 KVPC-PMFOPH01-013-R01 は-014-R01 及び R04 に統合した。

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および MASC 凍結細胞から培養開始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 必要品の持ち込み

7.2.1 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。

7.3 P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ

7.3.1 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。

7.3.2 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。

7.4 MMC 処理用培地調整

7.4.1 alpha-MEM 45 mL に対して抗生剤を添加する。

7.4.2 上記に対して FBS 5 mL を添加する。

7.4.3 上記を 15mL チューブ 3 本に 7mL ずつ分注する。

7.4.4 上記のうち、1 本 (7mL) に対して MMC(400 μ g/mL) を 70 μ L 添加する。

7.4.5 10mL ピペットでよくピペッティング。

7.5 MASC マイトマイシン C 処理工程

7.6 引き続き、MASC のマイトマイシン C 処理を行う。

7.7 退室

7.7.1 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ブローを切り、安全キャビネットの UV ランプを点灯する。

7.7.2 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。

7.7.3 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。

7.7.4 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

8.1 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

MASC マットマシン C 処理に関する手順書 KVPC-PMFOPH01-014、指図記録書 KVPC-PMFOPH01-013-R01 及び R04、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-PMFOPH01-014

別紙 18

MASC マイトマイシン C 処理培地調整に関する手順書

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、組成の一部追加等 | 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. MASC マイトマイシ C 処理培地調整工程の手順
8. 指図記録書の保管
9. SOP 逸脱時の対応
10. 関連する書類