

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. MASC 細胞の品質を確認するための手続きに関する工程の手順
 - ① 品質確認手続き
 - ② MASC 細胞のドナースクリーニング情報の確認
 - ③ MASC 細胞の微生物検査手続き
 - ① 微生物検査の対象
 - ② 微生物検査の内容
 - ③ 微生物検査検体採取法
 - ④ 微生物検査検体委託手続き
 - ④ MASC 細胞の生存率確認手続き
 - ⑤ MASC 細胞の細胞密度確認手続き
6. 品質確認書の保管
7. SOP 逸脱時の対応
8. 関連する書類

付図 1: MASC 細胞の品質を確認するための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・製品標準書に基づき、MASC 細胞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. MASC 細胞の品質を確認するための手続きに関する工程の手順

MASC 細胞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 の MASC 細胞の品質を確認するための手続きに関する工程作業フロー図に従う。

5.1. 品質確認手続き

MASC 品質検査書をクリーンルーム用印刷用紙に印刷し、原本を KVPC 居室に保管する。以下の品質確認項目のデータが取れるごとにデータ内容、データ採取日、データ記入日、添付書番号を記入する。

5.2. MASC 細胞のドナスクリーニング情報の確認

MASC 細胞に添付されるドナスクリーニング情報にて、微生物検査について許容値以下であることを確認し、MASC 品質検査書に記録する。

5.3. MASC 細胞の微生物検査手続き

5.3.1. 微生物検査の対象

MASC 細胞が始めて使用するロットの場合、あるいは検査済みロットであっても 20 本毎に、安全性を確認するために微生物検査を行う。

5.3.2.日程：MASC 細胞培養 2 日目、MASC マイトマイシン C 処理時に検体を採取する。

5.3.3.微生物検査の内容：MASC 細胞培養上清を検体とし、細菌検査（好気性、嫌気性、真菌、マイコプラズマ）、エンドトキシン検査、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）を行う。

5.3.4.微生物検査の適否判定基準：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。

5.3.5.微生物検査の手続き：MASC マイトマイシン C 処理に関する手順書 (KVPC-PMFOPH01-014) に掲げる手順で検体 12ml を採取し、うち 8.5ml を安全性試験検体回収および検査委託に関する手順書 (KVPC-QOPH01-008) に掲げる手順で検査委託し、残り 3.5ml を再検査用に細胞保存室-150℃超低温フリーザー-FR05 で凍結保存する。

5.4. MASC 細胞の生存率測定手続き

MASC 凍結細胞からの細胞培養開始工程 (KVPC-PMFOPH01-021) に従い、MASC 細胞凍結融解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、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。

5.5. MASC 細胞の細胞密度確認手続き

MASC マイトマイシン C 処理に関する手順書 (KVPC-PMFOPH01-014) に従い、顕微鏡観察において細胞密度がセクション以上のもを適正としてマイトマイシン C 処理する。また、セクションに達した日時を記録する。

6. 品質検査書の保管

全ての項目を記録した品質検査書は、製造工程責任者が承認し、品質管理責任者が確認した後、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

品質マニュアル、衛生管理基準書、上皮シート製品標準書 (KVPC-PMFOPH01)

安全性試験用検体回収および検査委託に関する手順書

制定:2009年6月01日
施行:2009年6月01日
改定案策定 2012年8月1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

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. 委託先
6. 委託検査内容
7. 検体内訳
8. 委託手順
9. 再検査手順
10. 試験結果受け取り手順
11. SOP 逸脱時の対応
12. 関連する書類
13. 付図 1: 検査フロー図

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微生物検査委託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. 委託先

利便性をかんがみ、委託先は株式会社エスアールエル（以下 SRL）とする。1 年ごとに委託先の見直しを行う。

6. 委託検査内容

角膜上皮シート製品標準書（KVPC-PMFOPH01）に基づき、委託検査内容は 6.1.表のとおりとする。検体フロー図は付図 1 のとおりとする。

6.1. 表 微生物検査委託内容

検査名	SRL 項目コード	項目名	検体	検体量	保存
細菌検査	5335N	好気性菌	角膜保存液または細胞培養上清	3 ml	凍結
		嫌気性菌			
		真菌			
エンドトキシン検査	6595	エンドトキシン		1 ml	冷蔵
ウイルス検査	6217	HCV (リアルタイム PCR)	上清	1.5mlx2	凍結
	6235	HBV (リアルタイム PCR)			
	2737	HIV-1RNA 定量 (高感度法)		2.5 mL	凍結
	6828	HTLV-1(ATLV)抗体		1.1 mL	凍結
	6312	パルボウイルス (B19)			
マイコプラズマ検査	6824	マイコプラズマニューモエ DNA			

7. 検体内訳

- 7.1. 検体はドナー角膜組織を保存した保存液、上皮細胞培養上清、および MASC 品質確認手順書(KVPC-PMFOPH01-005)で指定した MASC 細胞の培養上清、および原材料混合物とする。上清を使用する理由は、検体は液体を用いなければならず、組織および細胞の場合はそれを浸漬した液を検体として供することになり、角膜保存液および培養上清を検体に用いたほうがより多くの微生物を保持していることが期待されるため。
- 7.2. 検体採取時期は、上皮の場合は上皮培養開始 0 日目、1 週目、2 週目、MASC の場合は培養 2 日目以降とする。上皮培養開始 0 日目の検体はドナー角膜保存液を用い、それ以降では培養上清を用いる。

8. 委託手順

検体採取、委託手順を以下に示す。このうち検体採取手順 (8.1.~8.6.) までは検体採取を行う各工程、MASC マイトマイン処理手順書 KVPC-PMFOPH01-014、ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程

手順書 KVPC-PMFOPH01-023、マイトマイシン C 処理 MASC 交換手順書 KVPC-PMFOPH01-025、角膜上皮シート回収・包装・出荷に関する手順書 KVPC-PMFOPH01-007 に記載する。

- 8.1. CPC、P2ルーム1、安全キャビネット中で、検体 14 ml を 15 ml 遠心管に回収し、工程の区切りがつくまで冷蔵冷凍庫 FR03 冷蔵庫中で保存する。
- 8.2. 検体を 3.6 ml チューブ x5 本に、検体 3 ml x 1 本、1 ml x2 本、0.5 ml x2 本となるよう分注する。内訳は、細菌および真菌用に 3ml x 1 本、ウイルス検査用に 1 ml x 2 本、エンドトキシン検査用に 0.5 ml x 1 本、保存用に 0.5ml x 1 本。
- 8.3. 検体をラベルし、工程が終了するまで FR03 冷蔵庫で保存する。
- 8.4. 検体を遮光容器に入れ、慶應義塾大学眼科研究室へ検体を出庫、凍結品は凍結する。
- 8.5. 凍結検体を慶應義塾大学病院内 SRL 担当窓口へ輸送し、委託手続きを行う
- 8.6. 受領書を保存する。

9. 再検査手順

再検査が必要となった場合、以下の手順で委託を行う。

- 9.1. 凍結検体を慶應義塾大学病院内株式会社エスアールエル担当窓口へ輸送し、委託手続きを行う
- 9.2. 受領書を保存する。

10. 試験結果受け取り手順

- 10.1. 検査 1 週目に FAX で、1 週目までに判定した試験成績表を受け取る。
- 10.2. 検査 2 週目に最終的な試験成績表を受け取る。

11. 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。

12. 関連する書類

製品標準書 KVPC-PMFOPH01、衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書、角膜上皮シートの品質確認手順書 KVPC-QOPH01-001、ドナー角膜輪部組織の品質確認手順書 KVPC-QOPH01-002、MASC 細胞品質確認手順書 KVPC-QOPH01-003、MASC マイトマイシン処理手順書 KVPC-PMFOPH01-014、ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程手順書 KVPC-PMFOPH01-023、マイトマイシン C 処理 MASC 交換手順書 KVPC-PMFOPH01-025、角膜上皮シート回収・包装・出荷に関する手順書 KVPC-PMFOPH01-007

作業時における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 2012年08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

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,メルク) 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、フタをあげる。

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. 一般清浄区域内の細菌用インキュベーターにて 34℃で培養する。

5.3.7. 培養 1 週目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。

5.3.9. 品質責任者及び Project 責任者は原因を究明し、再発防止処置を講ずる。

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。
全ての指を押し付けること。

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い去る。

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. 一般清浄区域内の細菌用インキュベーターにて 34°C で培養する。

6.3.8. 培養 1 週目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。

6.3.10. 品質責任者及び Project 責任者は原因を究明し、再発防止処置を講ずる。

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-QOPH01-005-R01

上皮シート用原材料の安全性試験に関する手順書

制定 2009 年 06 月 01 日

施行 2009 年 06 月 01 日

改定案策定 2012 年 03 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

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. 手順
 - 5.1. 使用する原材料及び消耗品
 - 5.2. 使用する機器
 - 5.3. 評価基準
 - 5.4. 不合格時の処置
 - 5.5. データ管理
 - 5.6. ドライレン試験方法
 - 5.7. 評価方法
6. SOP 逸脱時の対応
7. 関連する書類

1. 目的

品質マニュアル・製品標準書に基づき製品用原材料の安全性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. 微生物検査内容

微生物検査内容および委託先は、安全性試験検体回収および検査委託に関する手順書 (KVPC-QOPH01-004) に記載のとおり行う。

6. 製品用原材料安全性試験手順

まず各工程で用いる製品用原材料を作成し、次にこれを混合して製品用原材料安全性試験検体を作成する。ここから安全性試験検体回収および検査委託に関する手順書(KVPC-QOPH01-004) に記載のとおり検体を採取、依頼する。なお、MASC 用培地にマイトマイシン C を加えたのが MASC マイトマイシン C 処理用培地であるため、MASC 用培地の検査は MASC マイトマイシン C 処理用培地で兼ねる。同様に、デイスパーゼ処理液は上皮用培地から KGF,インスリン、FCS を除き、デイスパーゼを加えたもの、上皮包装用培地は上皮用培地から FCS を除いたものであるため、上皮用培地にデイスパーゼを加えたものでこれらの検査を兼ねる。そこで、MASC マイトマイシン C 処理用培地、デイスパーゼ、上皮用培地を混合し、原材料安全性試験検体とする。合格しなかった場合、それぞれの培地について安全性試験を行う。

6.1. MASC マイトマイシン C 処理用培地の調整

MASC マイトマイシン C 処理培地調整に関する手順書 (KVPC-PMFOPH01-013-01) に基づき、MASC